

**Untersuchungen über die
Korrelation von Reihenverdünnungstest
und Hemmhoftest am Beispiel von
Ampicillin, Carbenicillin und Cefalotin**

Hermann Kain

1975

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof.Dr.H. SCHWIEGK

Untersuchungen über die Korrelation von Reihenverdünnungstest
und Hemmhoftest am Beispiel von
Ampicillin, Carbenicillin und Cefalotin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hermann K a i n

München 1974

Berichterstatter : Prof. Dr. W. LANG

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. SCHWIEGK

Dekan : Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 31. 7. 1975



INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

B. VORVERSUCHE ZUR ERSTELLUNG DER METHODE

I. Verwendetes Keimmaterial

II. Der Reihenverdünnungstest

III. Problematik der Inokulationsgröße und der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beim Reihenverdünnungstest

IV. Kritische Betrachtung des Reihenverdünnungstests

V. Der Agardiffusionstest oder Disc-Test

- 1) Faktoren, die den Agardiffusionstest
beeinflussen
- 2) Der Einfluß der Agartiefe auf Größe
und Qualität der Hemmzone
- 3) Hemmzonen bei unterschiedlichen Trock-
nungszeiten und verschieden langer
Lagerung der ausgegossenen Agarplatten

- 4) Einfluß der Prädiffusion
- 5) Einfluß der Keimzahl auf den Hemmzonendurchmesser
- 6) Die Wirkung unterschiedlicher Inokulationstechnik
- 7) Fehlermöglichkeiten beim Aufbringen der Testblättchen
- 8) Definition des Hemmzonendurchmessers
- 9) Abhängigkeit der Hemmzonengröße von der Blättchenbeschickung

VI. Diskussion zum Hemmhofstest

C. METHODE UND VERSUCHSBEDINGUNGEN

- 1) Vorbereitung der Agarplatten
- 2) Die Inokulation
- 3) Der Reihenverdünnungstest
- 4) Zusammenhang zwischen Reihenverdünnungstest und Blättchentest

D. VERSUCHE MIT AMPICILLIN

Versuchsergebnisse und Diskussion

E. VERSUCHE MIT CARBENICILLIN

Versuchsergebnisse und Diskussion

F. VERSUCHE MIT CEPHALOTIN

Versuchsergebnisse und Diskussion

G. STATISTISCHE BETRACHTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

H. KRITISCHE BETRACHTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

J. ZUSAMMENFASSUNG

K. LITERATURVERZEICHNIS

Anhang

Lebenslauf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. EINLEITUNG

Im Rahmen einer Laborstudie hatte ich die Aufgabe, das Verhalten von Ampicillin, Carbenicillin und Cephalotin im Hemmhoftest zu untersuchen. Ziel der Untersuchung war es, festzustellen, ob auf Grund eines ermittelten Hemmzonendurchmessers eine minimale Hemmkonzentration angegeben werden kann. Die Ergebnisse aus den Hemmhoftests wurden auf minimale Hemmkonzentrationen (MIC), die sich aus den parallellaufenden Reihenverdünnungstests ergeben, bezogen. Es wurde außerdem besonders darauf geachtet, daß die Versuchsbedingungen, unter denen die Tests abliefen, sich an der praktischen Arbeit des bakteriologischen Labors orientierte.

Die Beurteilung der chemotherapeutischen Sensibilität

Da es in der täglichen Routine des bakteriologischen Labors unmöglich erscheint, zu jeder Sensibilitätsbestimmung eines Keimes den Reihenverdünnungstest durchzuführen, um damit die minimale Hemmkonzentration (MIC) zu bestimmen, ist es notwendig, zu untersuchen, wie die Aussage des Hemmhoftests qualitativ und quantitativ zu beurteilen ist. Es ist aus der Sicht der Kliniker wünschenswert, daß die bisher von vielen Laboratorien üblichen Angaben zur Empfindlichkeit eines Keimes konkreter werden. Es ist immer wieder bezweifelt

worden, ob es sinnvoll ist, eine Angabe in Millimetern Hemmhofgröße zu machen oder andererseits auf Grund der Hemmzonengröße von einem resistenten, mäßig empfindlichen, gut empfindlichen oder gar sehr gut empfindlichen Keim zu sprechen (8,16,31,32). Ist der Hemmhof test, der sich in der praktischen Arbeit zweifellos bewährt hat, durch eine solche Interpretation nicht überfordert?

Die Beurteilung der chemotherapeutischen Sensibilität pathogener Keime ist sehr problematisch, da auch eine hohe Sensibilität eines Keimes in vitro keine Gewähr dafür bietet, daß die klinische Anwendung des betreffenden Medikaments zu einem therapeutischen Erfolg führt. (16,29,31) Eine der Ursachen für solche "Diskordanzen" ist die einerseits fehlerhafte Durchführung des Sensibilitätstests, andererseits auch eine falsche Interpretation der Ergebnisse aus dem Hemmhof test, der wohl die meistverwendete Testmethode in der täglichen Routine darstellt. Es wird also damit der Sensibilitätsgrad eines Erregers im bakteriologischen Sinne falsch beurteilt. Andererseits kann ein Keim sich durchaus bei der in vitro-Testung als sensibel erweisen, während in vivo die Organkonzentration der antibiotischen Substanz nahe an der MIC des Keimes oder sogar darunter liegen kann. Mit anderen Worten, ist die MIC eines Keimes beispielsweise 8 mcg/ml, so gewinnt diese Angabe erst an Aussagekraft, wenn gleichzeitig gewährleistet ist, daß die erreichbare Organkonzentration sicher über 8 mcg/ml liegt. Es wäre deshalb von großem

Vorteil, wenn bei jeder Resistenzbestimmung eines Keimes eine konkrete Angabe der MIC an Stelle der bisher üblichen und wenig präzisen Angaben von Hemmhofgrößen oder der Klassifizierung: sensibel, mäßig sensibel usw. gemacht werden könnte.

Es wurde immer wieder darauf hingewiesen, daß die übliche Aussage, der Keim war gegen beispielsweise ein 30 mcg-Blättchen sensibel, keine quantitative Aussage bedeutet und zu falschen Ergebnissen führt. Auch die vorgeschlagene Handhabung des Disc-Tests mit einer Blättchenbeschickung, die in der Größenordnung von erreichbaren Serumkonzentrationen liegt, ist abzulehnen, wenn bei der Beurteilung das Auftreten einer Hemmzone mit sensibel und das Ausbleiben einer Hemmzone mit resistent gleichgesetzt wird. Nicht zuletzt das Angebot von Testblättchen und Testtablets mit verschieden hoher Beschickung macht das Erstellen einer Kennlinie für das jeweilige Antibiotikum und die genaue Angabe von Standards, unter denen der Disc-Test ablaufen muß, dringend notwendig. (8,16,31,32) J. RYAN berichtet z.B. bei Tests mit Cephalotin-Testblättchen über Ergebnisse, bei denen Stämme mit einer definierten Hemmzone im Disc-Test, im Agardilution-Test MIC's aufwiesen, die in der Größenordnung von 128 mcg/ml lagen. Diese Beispiele zeigen deutlich, daß es nicht erlaubt ist, nur vom Auftreten einer Hemmzone aus auf die Sensibilität eines Keimes zu schließen. Eine solche Interpretation des Hemmhoftergebnisses kann zu schweren Fehlbeurteilungen der getesteten Keime führen und ist besonders bedenklich, wenn dann ein Keim

als sensibel bezeichnet wird, der in Wirklichkeit resistent ist. Um zu einer möglichst exakten Korrelation zwischen den Ergebnissen aus dem Reihenverdünnungstest, der die Bezugsgröße bei der Bestimmung der Sensibilität darstellt, und den Resultaten aus dem Hemmhoftest zu gelangen, ist es notwendig, ein hohes Maß an Standardisierung der Versuchsbedingungen zu erreichen. In den folgenden Untersuchungen sollten Standards und Kriterien zur Beurteilung der angewandten Testverfahren erarbeitet werden.

B. VORVERSUCHE ZUR ERSTELLUNG DER METHODE

Als Basismethoden wurden der Reihenverdünnungstest und der Agardiffusionstest oder Disc-Test verwendet. Auf den Agardilution-Test wurde verzichtet, da er keine Routinetestmethode darstellt, wie etwa der Hemmhoftest. Als erstes wurde das verwendete Keimmaterial untersucht.

I. Verwendetes Keimmaterial

Als Untersuchungsmaterial dienten von Patienten mit Harnwegsinfekten frisch isolierte Erregerstämme von *Escherichia coli* aus dem bakteriologischen Labor der I. Medizinischen Klinik der Universität München (Prof. Dr. W. LANG). Alle Bakterienstämme wurden nach den üblichen Methoden identifiziert und ohne Vorauswahl den Tests unterzogen. Nach Abschluß der Versuche wurden die Teststämme nach Empfindlichkeitsbereichen geordnet. Es ergab sich die gleiche Verteilung wie bei der Routinearbeit im Labor. Aus der Kartei des Labors wurden 1257 *E. coli*-Stämme ausgezählt und nach dem Hemmzonendurchmesser geordnet. Die Testungen waren mit Testblättchen, die mit 5 mcg/disc Ampicillin beschickt waren, durchgeführt worden. Die prozentuale Verteilung der Hemmzonendurchmesser ist aus Abb. 1 zu entnehmen.

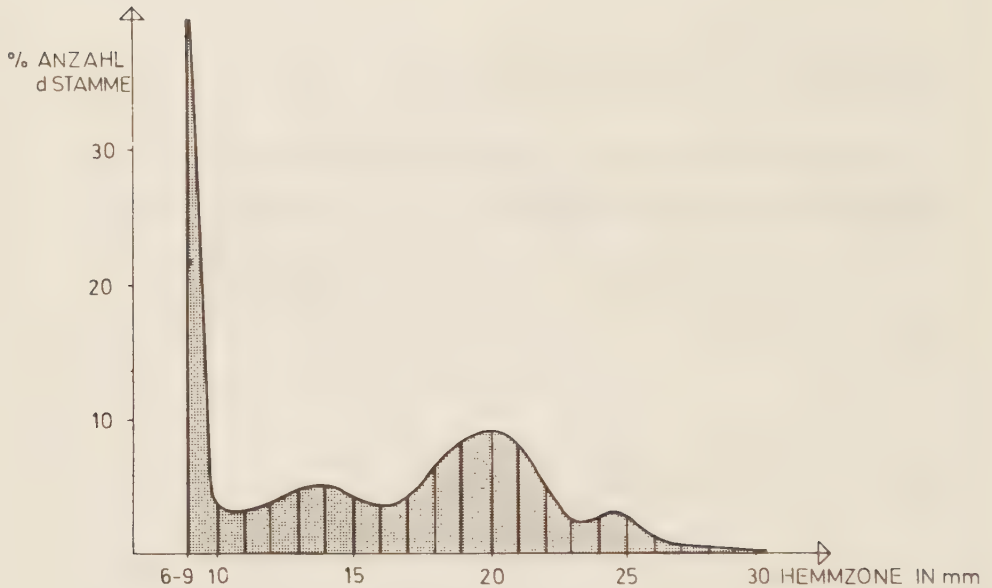


Abb. 1: Häufigkeitsverteilung nach Hemmzonengröße

Das Diagramm in Abb. 1 zeigt, daß bei der Häufigkeitsverteilung der gemessenen Hemmzonendurchmesser vier Gipfelpunkte auftreten: bei Werten von I. 6-9 mm, bei II. 14 mm, bei III. 20 mm und bei IV. 25 mm. Es läge nahe, diese Gruppen I-IV mit Sensibilitätsgraden wie I. resistent, II. mäßig sensibel, III. gut sensibel, IV. sehr gut empfindlich zu klassifizieren. Das würde nach der Häufigkeit geordnet bedeuten, daß ca. 40 % der ausgetesteten *E. coli*-Stämme gegen Ampicillin vollkommen resistent waren. Nach NAUMAN und Hubmann werden ca. 52 % *E. coli* von Ampicillin erfaßt (20).

Werden die Hemmhofgrößen bis einschließlich 13 mm Durchmesser noch in die Gruppe I aufgenommen, so würde der Prozentsatz der Resistenten auf 51,2 % ansteigen und so zu einer guten Übereinstimmung mit oben erwähnten Ergebnissen führen. In den folgenden Versuchen sollte ermittelt werden, ob eine solche Gruppeneinteilung, basierend auf Ergebnissen aus dem Hemmhoftest, zulässig ist und inwieweit sie durch Angaben von MIC's interpretiert werden dürfen. Dazu war es nötig, vergleichende Untersuchungen mit Reihenverdünnungstest durchzuführen.

II. Der Reihenverdünnungstest

Als verbindlicher Test für die Feststellung der minimalen Hemmkonzentration (MIC) wird nach wie vor der Reihenverdünnungstest angesehen. Es wurde in den folgenden Experimenten der Versuch gemacht, die aus dem Reihenverdünnungstest erhaltenen Ergebnisse hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit und Beeinflussbarkeit durch Versuchsbedingungen zu beurteilen und geeignete Standards zu finden, die für die praktische Laborarbeit annehmbar sind. Im Reihenverdünnungstest wurden 10 Konzentrationsstufen hergestellt. Sie waren so gewählt, daß die höchsten Konzentrationen weit über dem therapeutisch erreichbaren Serumspiegel lagen und so auch MIC's von Keimen bestimmt werden konnten, die bereits außerhalb der Therapiegrenzen lagen. Damit wurde auch ein Bereich erfaßt, in dem

eventuell auftretende Hemmzonen von resistenten Keimen mit einer MIC in Beziehung gesetzt werden konnten. Diese Maßnahme war wichtig, da von einigen Autoren ein definierter Hemmhof mit einer Sensibilität des getesteten Keimes gleichgesetzt wird. (16,31)

Die Standardlösungen für Ampicillin, Carbenicillin und Cephalotin wurden täglich neu angesetzt, um einem möglicherweise auftretenden Wirkungsverlust aus dem Wege zu gehen. Die Verdünnungsstufen waren so angelegt, daß von einem Röhrchen zum nächstfolgenden sich die Antibiotikumkonzentration um die Hälfte reduzierte. Eine genaue Aufstellung der Reihenverdünnungstests findet sich im Anhang in den Tabellen I-III.

III. Problematik der Inokulationsgröße und der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beim Reihenverdünnungstest

Anfänglich traten große Differenzen in den Ergebnissen des Reihenverdünnungstests auf. Bei Kontrollversuchen wurden sehr große Unterschiede, und zwar von völliger Resistenz bis zu guter Empfindlichkeit gefunden, so daß eine Verwertung der Ergebnisse nicht möglich war. Nachdem die Schwierigkeiten in der praktischen Durchführung und die Sterilitätsprobleme überwunden waren, blieb noch die Schwierigkeit, eine geeignete Keimzahl für die Inokulation zu finden. Die Beurteilung der Übergänge von 'bewachsen' zu 'nicht bewach-

sen' war oft nicht möglich. Es war zwar immer eine Abstufung in der Intensität des Bewuchses festzustellen, die aber keine exakte Definition der MIC zuließ.

Grundsätzlich ist zu sagen, daß die Höhe der Hemmdosis von der Einsaatmenge im Reihenverdünnungstest abhängig ist. (8,16) Sie ist abhängig von der Substanz, von dem zu testenden Keim und von der Höhe der inkubierten Keimzahl. Für Penicilline und *E. coli* ist die Beziehung zwischen Einsaatdichte und Hemmdosis im Reihenverdünnungstest über weite Strecken relativ konstant. Das bedeutet, die MIC eines Stammes *E. coli* ist für Penicilline im Reihenverdünnungstest unabhängig von der Einsaatgröße, sofern gewährleistet ist, daß diese innerhalb 10^2 bis 10^7 Keime/ml liegt. (16) In Vorversuchen wurde dieses Verhalten bestätigt und eine Inokulationsgröße von 10^5 Keime/ml in den weiteren Versuchen verwendet. Bei dieser Inokulationsgröße waren durchwegs klare Übergänge festzustellen und die Kulturverdünnung konnte gleichzeitig zur Beimpfung der Agarplatten verwendet werden (vgl. auch dazu V/5).

IV. Kritische Betrachtung des Reihenverdünnungstests

Bei der Beurteilung der Ergebnisse aus dem Reihenverdünnungstest ist zu bedenken, daß die Aussage, ein Keim hat die MIC von beispielsweise 3,12 mcg/ml, keine exakt definierte Größe darstellt, sondern einen Hemmbereich angibt.

Am Beispiel von Ampicillin ist zu zeigen, daß die exakte Hemmkonzentration zwischen 2,5 mcg/ml und 3,12 mcg/ml liegen würde. (vgl. dazu Tab. I im Anhang) Dieser Bereich wird durch die Konzentrationsstufen, wie sie im Reihenverdünnungstest unumgänglich sind, hervorgerufen. Enthält das erste klare Röhrchen eine Antibiotikumkonzentration von 3,12 mcg/ml, so ist die exakte MIC günstigenfalls wenig mehr als 2,5 mcg/ml, ungünstigenfalls gering weniger als 3,12 mcg/ml. Es tritt somit ein Hemmbereich von ca. 0,5 - 0,6 mcg/ml auf.

Diese Bereiche nehmen entsprechend der geometrischen Reihe der Verdünnungsstufen ab. Beim Beispiel der Verdünnungsreihe des Ampicillin liegt der größte Bereich, innerhalb dem die exakte MIC liegt, in der Größenordnung von ca. 30 mcg/ml. Liegen die Empfindlichkeiten bei den letzten Röhrchen der Reihe, so ist dieser Hemmbereich so klein, daß er fast als ein Wert angegeben werden kann. Er liegt dann nur in der Größenordnung von 0,03 mcg/ml. Die graphische Darstellung dieser Hemmbereiche im Koordinatensystem führt zu einer Kurve. Um die MIC's mit den Hemmhofwerten besser in der graphischen Darstellung koordinieren zu können, werden die MIC's in einem halblogarithmischen System mit den Hemmzonendurchmessern in Beziehung gesetzt. Diese Darstellung der resultierenden Regressionsgeraden wird auch bei ERICSSON und SHERRIS u.a. bevorzugt. (5,8,12,29,30)

V. Der Agardiffusionstest oder Disc-Test

1) Faktoren, die den Agardiffusionstest beeinflussen

Um den Zusammenhang von Hemmhoftest und Reihenverdünnungstest genauer beurteilen zu können, war es notwendig, Vorversuche zu unternehmen. Diese hatten einerseits den Zweck, Faktoren, die die Resultate des Disc-Tests beeinflussen, näher zu bestimmen, andererseits geeignete Standards für die nachfolgenden Hauptversuche zu erarbeiten. Festgelegt war, daß bei den Versuchen als Nährmedium DIFKO-Agar verwendet wird.

Es ist klar, daß, wenn der Hemmzonendurchmesser als Maß für die Sensibilität eines Keimes verwendet wird, alle Faktoren, die den Test beeinflussen können, konstant gehalten werden müssen.

2) Der Einfluß der Agartiefe auf Größe und Qualität der Hemmzone

Verwendet wurde ein Stamm von E. coli Nr. EC 38. Er wurde dreimal getestet und wies im Reihenverdünnungstest mit Ampicillin konstant eine Empfindlichkeit von MIC: 1,25 mcg/ml und im Agardiffusionstest Hemmzonengrößen von 21 ± 1 mm bei einer Blättchenbeschickung von 5 mcg/disc auf.

Es wurden Agarplatten mit variierender Tiefe des Agars angelegt, beimpft und 16 bis 20 Stunden bei 37° C bebrütet. Daraufhin wurden die Hemmzonendurchmesser ermittelt und bezüglich ihrer Qualität beurteilt. Kriterien waren:

1. Variationen im Hemmzonendurchmesser
2. Scharfe Begrenzung des Hemmzonenrandes
3. Regelmäßigkeit und Lokalisation der Hemmzone in Bezug auf das Blättchenzentrum

Es wurden für jede Agartiefe sechs Platten ausgegossen und auf jede Platte fünf Testblättchen aufgelegt. Die Agartiefen variierten von 1 mm bis 10 mm. Aus den Ergebnissen wurde ein Diagramm erstellt (Abb. 2).

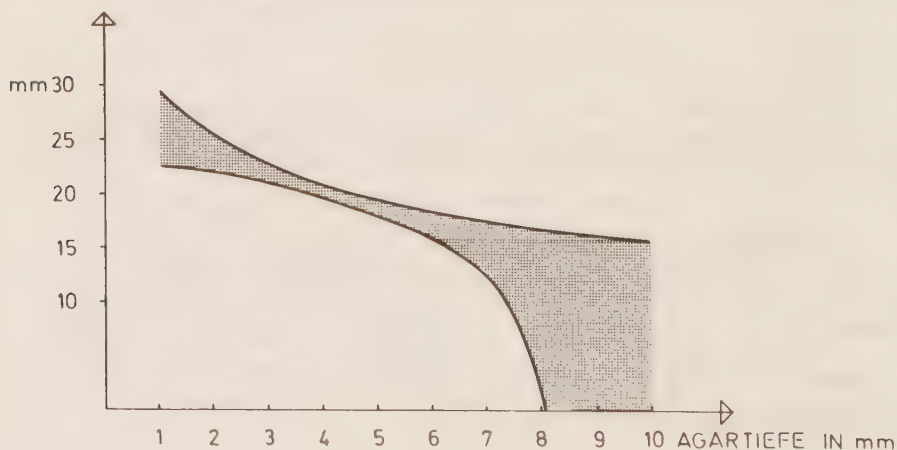


Abb. 2: Zusammenhang von Agartiefe und Hemmzonengröße

Legende zu Abb. 2: Die Ausbildung des Hemmhofs steht in einer Abhängigkeit zur Agartiefe. Die gefundenen Werte liegen innerhalb der schraffierten Fläche in Abb. 2. Mit unterschiedlicher Agartiefe sind auch unterschiedliche Diffusionsräume gegeben, und so kommt es zu Streuungen der Hemmzonen Durchmesser. Bei größeren Agartiefen kann eine Substanz so stark in die Tiefe diffundieren, daß es nicht mehr zu einer kreisförmigen Ausbildung der Hemmzonen kommt. Der Hemmzonenrand wird unscharf, das Blättchen liegt exzentrisch oder im Extremfall (ab ca. 8 mm Agartiefe) außerhalb einer nicht bewachsenen Agarfläche, so daß dieser Hemmhof dem Blättchen nicht mehr zugeordnet werden kann. Eine Agartiefe von 4 mm wurde hinsichtlich der Genauigkeit und der praktischen Durchführbarkeit als günstig angesehen und in allen nachfolgenden Agardiffusionstests verwendet. Schwankungen der Agartiefe im Bereich von 2,5 bis 4,5 mm beeinflussen die Reproduzierbarkeit der Hemmzonen, wenn für jeden Test drei Blättchen aufgelegt werden und der Mittelwert errechnet wird, nicht wesentlich. Trotzdem sollten, da im Hemmhofstest noch andere Faktoren zu Streuungen der Hemmzonen beitragen, die Agartiefe möglichst konstant gehalten werden, um einen Summationseffekt dieser Faktoren gering zu halten. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen Autoren im wesentlichen überein.

(8,12,16) Auch ERICSSON und SHERRIS (Antibiotic sensitivity testing) empfehlen eine Agartiefe von 4 mm. BOURGEOIS und HART (2) fanden bei ihren Untersuchungen in manchen Fällen auch größere Hemmzonen bei tieferen Agarschichten. DUNSMOOR und SHERRIS (6) machten mit Cephalotin, Penicillin und Erythromycin Untersuchungen und ließen die

Agartiefen zwischen 2,1 mm und 5,8 mm variieren. Sie erhielten Hemmhofwerte, die zwischen 0,6 und 1,2 mm für Cephalotin und um 1,1 mm bei Penicillin schwankten. Bei Erythromycin zeigten sich nur Schwankungen von 0,5 mm. Die Untersuchungen zeigen, daß Unterschiede in der Agartiefe, sofern sie sich in Grenzen von wenigen Millimetern bewegen, einen vergleichsweise geringen Einfluß auf die Hemmzonengröße haben. Es kann aber nicht bestritten werden, daß der Einfluß der Agartiefe zusätzlich auch von der antibiotischen Substanz abhängig ist. Bei Penicillinen liegen die Schwankungen um ca. 1 mm (Agartiefe 2,1 bis 5,8 mm), bei Chloramphenicol (Agartiefe 1-8 mm) bei 4,8 mm, während die Hemmzonen von Tetrazyclinen (Agartiefe 2-8 mm) nicht beeinflußt werden. Das unterschiedliche Verhalten der Substanzen erklärt sich aus den verschiedenen Diffusionseigenschaften. (8,16)

3) Hemmzonen bei unterschiedlichen Trocknungszeiten und verschieden langer Lagerung der ausgegossenen Agarplatten

Um den Einfluß verschieden langer Trocknungszeiten und unterschiedlich langer Lagerungszeiten zu untersuchen, wurden ebenfalls verschiedene Tests gemacht. Trocknungszeiten der frisch ausgegossenen Agarplatten von 30 min., 1 Stunde und 2 Stunden bei 37° C wurden erprobt. Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in den Hemmzonendurchmessern. Nach 30 min. waren die Agaroberflächen

in der Regel trocken und spiegelnd. Lagerung der Platten bis zu 14 Tagen bei $+ 4^{\circ}$ C ergaben ebenfalls keine Unterschiede. Dies ist offensichtlich darauf zurückzuführen, daß bei der Inokulation der Agaroberfläche genügend Feuchtigkeit zugeführt wird, damit unterschiedliche Feuchtigkeitsgrade der Oberfläche ausgeglichen werden können. Trotzdem wurden in den nachfolgenden Versuchen nur täglich frisch ausgegossene Agarplatten verwandt. Der Agar wurde ausgegossen, bei 4° C bis zur völligen Erstarrung gelagert und bei 37° C 30 min. lang getrocknet.

4) Prädiffusion

Es wurde auch untersucht, ob in der praktischen Durchführung des Hemmhoftests bei den Substanzen Ampicillin, Carbenicillin und Cephalotin eine Prädiffusion zu einer qualitativen oder quantitativen Verbesserung der Hemmzonen führt. Eine Prädiffusion von 30 min., einer Stunde und zwei Stunden bei Zimmertemperatur beziehungsweise bei 37° C brachte keine Verbesserung bezüglich der Schärfe des Hemmzonendurchmessers. In weniger als 10 % konnte ein 1 mm größerer Hemmzonendurchmesser ermittelt werden als ohne Prädiffusion. Da die Variationsbreite von ± 1 mm die Aussagekraft des Hemmhofs nicht beeinflußt, wurde in den folgenden Versuchen keine Prädiffusion vorgenommen. Im Gegensatz dazu wird in Antibiotic Sensitivity Testing (6,8,9,24) u.a. der größte Grad der Reproduzierbarkeit der Hemmzonendurchmesser bei einer Prädiffusionszeit von 30 min.

angenommen. Untersucht wurden bei Prädiffusionszeiten von 0, 30 min., 1 Stunde und 2 Stunden bei Zimmertemperatur. In den Arbeiten von R. GALLIEN und H. SCHÖNFELD (12) wird eine Prädiffusion von 2 Stunden empfohlen. Eine Stunde bei Zimmertemperatur bzw. 30 min. bis vier Stunden bei 4° C brachten nach ihrer Aussage keine Verbesserung der Hemmzonenqualität.

5) Einfluß der Keimzahl auf den Hemmzonendurchmesser im Agardiffusionstest

Wie immer wieder betont wird, ist einer der wichtigsten und zugleich der am schwierigsten zu standardisierende Faktor eine geeignete Einsaatdichte beim Agardiffusionstest. (8,9,16,31) Eine zu dichte oder zu dünne Rasenbildung auf der Agarplatte machen eine Verwertung der Ergebnisse unmöglich. Besonders die Ausbildung des Hemmzonenrandes wird nicht mehr regelmäßig und die Durchmesser variieren stark. Bei zu dünner Beimpfung können Hemmzonen auftreten, die keine Aussage über die Empfindlichkeit des getesteten Keimes zulassen. Zu dichte Beimpfung ergibt eine zu geringe Hemmhofgröße und hätte zur Folge, daß ein sensibler Keim als resistent bezeichnet wird. Bei zu dünner Beimpfung könnte ein in Wirklichkeit resistenter Keim unter Umständen als sensibel bezeichnet werden. Bei den Tests wurde eine Bakteriendichte angestrebt, bei der noch

einzelstehende Kolonien mit dem unbewaffneten Auge sichtbar sind und nur einige wenige mit anderen zusammenfließen.

Diese Einsaatdichte entspricht bei *Escherichia coli* ca. 1500 Kolonien/cm². Diese Koloniedichte wird auch im Sensitivity Testing Report als die günstigste erachtet.

Die besondere Schwierigkeit im Herstellen der Kulturverdünnung lag darin, daß eine Bakterienverdünnung gefunden werden sollte, die zwei Anforderungen genügen sollte. Erstens sollte sie zur Beimpfung im parallellaufenden Reihenverdünnungstest verwendet werden können, und zweitens die gewünschte Rasendichte auf der Agarplatte hervorrufen. Dadurch würde es möglich werden, Reihenverdünnungstest und Hemmhoftest mit einer einzigen Bakterienverdünnung zu beimpfen und praktikable Methoden für die Inokulation anzugeben. Diese beiden Bedingungen erfüllte am besten eine Einsaatdichte, die folgendermaßen erreicht wurde:

Ein Tropfen einer 1-ml-Pipette aus einer 18 Stunden bebrüteten milchigtrüben Bouillonkultur von *E. coli* wurde mit 25 ml Bouillon verdünnt. Von dieser Verdünnung wurden drei Platinösen auf die Agarplatte aufgebracht und mit einem Drygalski-Spatel verstrichen. Die korrekte Dichte der Einsaat wurde nach 18 Stunden Inkubation bei 37° C mit dem unbewaffneten Auge beurteilt. Eine wiederholte Keimzahlbestimmung der Verdünnung zeigte, daß annäherungsweise 10⁵ bis 10⁶ Keime/ml Bouillon, d.h. kolonienbildende Einheiten erhalten wurden.

6) Die Wirkung unterschiedlicher Inokulationstechnik

Im Sensitivity Testing Report (ERICSSON, SHERRIS) wird auch eine überflutende Beimpfung (Flooding Method) verwandt. Dabei werden die Agarplatten mit 2 ml der Bakterienverdünnung überflutet, ausgekippt und dann 15 Minuten getrocknet. Diese Methode wurde ebenfalls erprobt. Das überschüssige Material wurde mit der Pipette abgesaugt. Nach 18 Stunden Inkubation wurden die Platten miteinander verglichen. Die Rasenbildung war bei der Überflutung etwas dichter, lag aber noch im Rahmen der annehmbaren Koloniedichte. Die Qualität der Hemmhöfe war nicht unterschiedlich, der Hemmzonendurchmesser eher etwas kleiner (bis 2 mm). Da die überflutende Inokulation in der Ausführung aufwendiger ist, besonders das Absaugen des überschüssigen Keimmaterials, qualitativ aber keine Verbesserung im Hemmhoftest ergibt, wurde bei allen nachfolgenden Versuchen die Inokulation mit Platinöse und Drygalski-Spatel vorgenommen. Im Hauptversuch wurden zusätzlich bei den Versuchsreihen mit Ampicillin bei den Keimen EC 1 bis EC 50 die "Flooding Method" erprobt, um ein umfassenderes Ergebnis zu erhalten. Es war auch hier keine qualitative Verbesserung zu erkennen.

7) Fehlermöglichkeiten beim Aufbringen des Testblättchens

Die Handhabung der Testblättchen und Testtabletten ist denkbar einfach und erfordert keine besonderen Verhaltensmaßnahmen.

Sie werden am günstigsten mit Hilfe einer Pinzette auf die Agaroberfläche aufgebracht. Das in den Gebrauchsanleitungen immer wieder geforderte Anpressen der Blättchen ist nach meinen Erfahrungen nicht nötig, da sich bei ausreichender Feuchtigkeit der Agaroberfläche die Blättchen sofort vollsaugen und es dadurch zur Ausbildung von Adhäsionskräften kommt, die dem Blättchen eine genügend große Oberflächenhaftung verleihen. Die Diffusion der Substanzen wird ebenfalls nicht gestört. Wesentlich wichtiger ist eine ausreichende Feuchtigkeit der Agaroberfläche, die dazu nötig ist, das trockene Blättchen anzufeuchten und die Substanzen freizusetzen. Es ist also stets auf genügend Feuchtigkeit zu achten, die in der Regel durch die Inokulationsflüssigkeit miterzeugt wird.

8) Definition des Hemmzonenendurchmessers

Der Durchmesser der Hemmzone wurde mit Hilfe eines Stechzirkels abgenommen und in Millimetern angegeben. Es wurden jeweils drei Testblättchen aufgelegt und aus den erhaltenen Hemmzonengrößen der arithmetische Mittelwert errechnet. Traten unscharfe Begrenzungen der Hemmzonen auf, so wurde mit dem unbewaffneten Auge der frei erscheinende Durchmesser ausgemessen. War eine einzelne Kolonie innerhalb einer sonst freien Hemmzone lokalisiert, so wurde diese vernachlässigt. Bei mehr als einer wurde die Testplatte verworfen. Bei ERICSSON/SHERRIS werden einzelne Kolonien ebenfalls vernachlässigt,

um excessive Ergebnisse zu vermeiden. Die von verschiedenen Autoren versuchte Angabe des Hemmzonendurchmessers bis auf Zehntel Millimetern wurde nicht übernommen, da sogar Schwankungen bis zu einem Millimeter bei den Testergebnissen immer vorkamen (8,16). Die Aussagekraft des Hemmhoftests kann durch übertriebene Meßgenauigkeit nicht gesteigert werden und verleitet nur zu einer falschen Interpretation der Ergebnisse.

9) Abhängigkeit der Hemmzonengröße von der Blättchenbeschickung

Die Fragestellung trat einerseits durch die Suche nach Faktoren, die den Hemmzonendurchmesser beeinflussen auf, andererseits auf Grund der Tatsache, daß in den Testbestecken zur Sensibilitätsprüfung, Testblättchen mit verschieden hoher Beschickung angeboten werden. Im nachfolgenden Test wurde der Versuch gemacht, den Zusammenhang von Hemmzonengröße und Beschickung zu demonstrieren.

Zur Durchführung des Tests wurden Originaltestblättchen von Ampicillin der Firma HÖCHST mit einer Beschickung von 5 mcg/disc verwendet. Sie wurden mit Aqua dest. ausgelaugt, getrocknet und dann mit frisch angesetzter Ampicillinlösung beschickt. Als Blindwert wurden ausgelaugte, nicht beschickte Blättchen verwendet. Als Bezugswerte liefen Originaltestblättchen 5 mcg/disc und Testtabletten der Firma BAYER mit 15 mcg/Tbl und 75 mcg/Tbl im Test mit.

Teststämme waren:

E. coli Nr. EC 20 MIC 0,62 HH 20 $\pm$ 1 mm bei 5 mcg/disc

Nr. EC 2 MIC 25 mcg/ml HH 13 mm

Nr. EC 30 MIC 1,25 mcg/ml HH 20 $\pm$ 1 mm

Jeder Stamm wurde mit Testblättchen mit einer steigenden Beschickung von 5 mcg/disc bis 400 mcg/disc getestet. Das Ergebnis ist in Abb. 3 dargestellt.

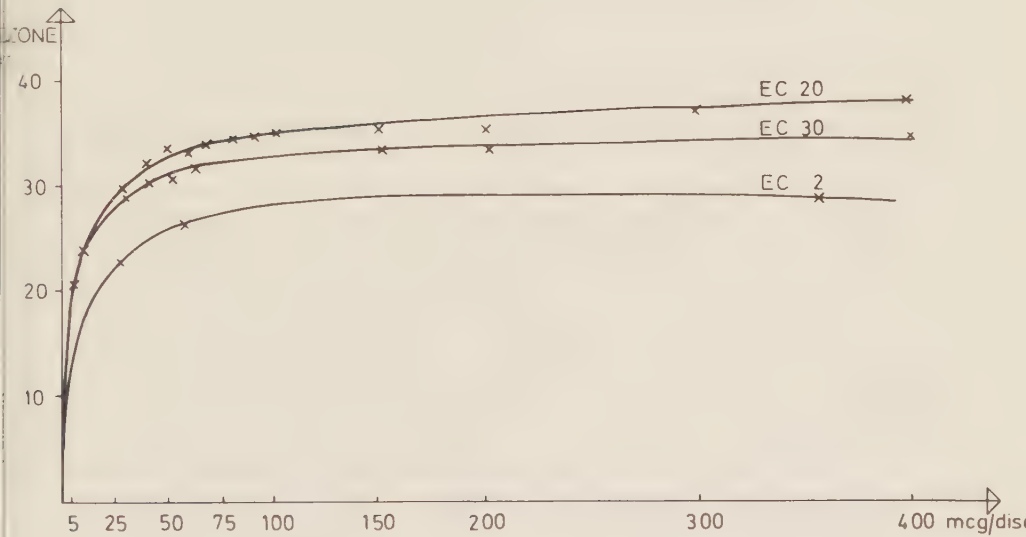


Abb. 3: Hemmzonengröße in Abhängigkeit von der Blättchenbeschickung

Bei der Beurteilung des Blättchentests muß davon ausgegangen werden, daß es sich hier um eine Menge einer antibiotischen Substanz handelt und nicht um eine Konzentration wie im Reihenverdünnungstest. Mit Auflegen des Blättchens wird der Wirkstoff gelöst, und es entsteht ein Diffusionsgradient vom Blättchenzentrum in die Peripherie, der für eine Verteilung des Wirkstoffes im Agar sorgt. Mit zunehmender Entfernung vom Blättchenzentrum sinkt die Konzentration des Wirkstoffes im Agar und gleichzeitig wird auch das Konzentrationsgefälle flacher. Eine definierte Menge an Substanz verteilt sich innerhalb 18 h über eine Kreisfläche, deren Durchmesser von der Höhe der Substanzmenge abhängig ist. Bei hoher Beschickung ist das Konzentrationsgefälle länger stabil. Fällt die Rasenbildungszeit mit der Zeit zusammen, in der das Konzentrationsgefälle noch relativ stabil ist, so sind die Ergebnisse im Hemmhoftest am brauchbarsten. (4,16,29)

Wie aus Abb. 3 zu sehen ist, werden auch die Hemmzonenwerte differenzierter. Bei EC 20 und EC 30 kommt es bei einer höheren Beschickung, ab ca. 25 mcg/disc, zu unterschiedlich großen Hemmhöfen, während bei einer Blättchenbeschickung von 5 mcg/disc lediglich die Hemmzonenwerte von EC 20 EC 30 einerseits und EC 2 andererseits sich unterscheiden, obwohl alle drei Stämme eine verschieden hohe MIC besitzen. Eine Blättchenbeschickung von mindestens 25 mcg/disc bei Ampicillin würde also genauere Ergebnisse im Hemmhoftest bringen.

VI. Diskussion zum Hemmhoftest

Wie aus den Vorversuchen für die Standardisierung des Hemmhoftests zu ersehen ist, ist die Ausbildung der Hemmzonen von vielen verschiedenen Faktoren abhängig. Auch eine äußerst genaue Konstanzhaltung der verschiedenen Parameter führte nicht zu einer exakten Reproduzierbarkeit der Hemmzonen. Zwar schwankten die einzelnen Hemmzonendurchmesser nur um wenige Millimeter, aber es konnte nie für einen Keim ein einheitlicher Hemmhof erreicht werden. Selbst auf einer Agarplatte mit fünf Blättchen traten Schwankungen von 1-2 mm auf. Auffällig war, daß die Streuung der Hemmzonenwerte auch mit der Zunahme der Hemmhofgrößen anstieg. Mit anderen Worten: je größer ein Hemmhof ist, umso ungenauer wird eine Angabe seines Durchmessers. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß in der Peripherie die Antibiotikumkanzenzration sehr gering wird und andere Faktoren dadurch stärker ins Gewicht fallen, die die Hemmhofgröße noch mit beeinflussen. Die Ergebnisse der Vorversuche zeigen, daß es nicht möglich ist, die Hemmzonengröße mit einer MIC ohne weiteres in Beziehung zu setzen, da die Hemmhofergebnisse nicht exakt reproduzierbar sind. Es bleibt also nur die Möglichkeit, mit Hilfe des Hemmhoftests und Reihenverdünnungstests Hemmbereiche herauszuarbeiten, um diese dann mit einer MIC zu koordinieren. Dies wurde in den folgenden Experimenten versucht.

C. METHODE UND VERSUCHSBEDINGUNGEN

1) Vorbereitung der Agarplatten

Der Agar wurde im Wasserbad verflüssigt und bis zu einer Tiefe von 4 mm in die Petrischalen ausgegossen. Dann wurden die Agarplatten bei 4° C bis zur völligen Erstarrung gelagert und 30 min. bei 37° C getrocknet. Die Agarplatten wurden für jeden Versuch frisch zubereitet.

2) Die Inokulation

Ein Tropfen einer 1-ml-Pipette aus einer 18 Stunden bebrüteten, milchigtrüben Bouillonkultur von E. coli wurde mit 25 ml Bouillon verdünnt. Von dieser Verdünnung wurden drei Platinösen auf die Agarplatte aufgebracht und mit einem Drygalski-Spatel verstrichen. Unmittelbar danach wurden auf jede Testplatte drei Antibiotika-Testblättchen aufgebracht und die Agarplatte ohne Vordiffusion in den Brutschrank gegeben. Nach 18-stündiger Bebrütung wurden die Hemmzonen abgelesen und aus den drei Ergebnissen das arithmetische Mittel errechnet.

3) Der Reihenverdünnungstest

Für den Reihenverdünnungstest wurden täglich frische Standardlösungen von 1000 mcg/ml hergestellt und mit Pufferlösungen auf die

gewünschten Arbeitskonzentrationen verdünnt. Dadurch wurde einem eventuell eintretenden Wirkungsverlust bei längerer Lagerung aus dem Wege gegangen.

Die Verdünnungsreihe wurde so angelegt, daß die Konzentrations-schritte eine geometrische Reihe bildeten. Genaue Angaben der Verdünnungsreihen für jede Substanz finden sich in den Tabellen im Anhang.

Jedes Reagenzglas wurde mit 1 ml der Kulturverdünnung inokuliert, die auch zur Beimpfung der Agarplatten verwendet wurde. Die Reagenzgläser wurden 18 Stunden bei 37° C bebrütet.

Abgelesen wurde mit dem unbewaffneten Auge. Alle unklaren Übergänge wurden verworfen, der betreffende Bakterienstamm erneut angezüchtet und nochmals getestet.

4) Zusammenhang zwischen Reihenverdünnungstest und Blättchentest

Der Blättchentest stellt eine vereinfachte Methode zur Bestimmung der Empfindlichkeit von Bakterien gegen eine bestimmte Substanz dar, wie sie auch durch Ermittlung der MIC im Reihenverdünnungstest erfolgt. Da der Reihenverdünnungstest wesentlich genauer ist, ist er immer noch die einzige bestimmende Bezugsgröße für alle Methoden der Sensibilitätstestung. Die Versuche, deren Ergebnisse im Folgenden geschildert werden, dienten dazu, den Zusammenhang von Ergebnissen aus dem Blättchentest und dem Reihenverdünnungstest zu erarbeiten. Es wurde versucht, mit 50 E. coli-

Stämmen eine Regressionsgerade aufzustellen, die den Zusammenhang demonstriert. Alle Stämme wurden unter genau festgelegten Standards mindestens zweimal getestet. Die arithmetischen Mittelwerte der Hemmzonendurchmesser wurden zum Logarithmus, der aus dem Reihenverdünnungstest erhaltenen MIC's in einer graphischen Darstellung in Beziehung gesetzt. Diese Darstellung von Testergebnissen wird auch von anderen Autoren bevorzugt. (5,8,12,29)

D. VERSUCHE MIT AMPICILLIN

1) Ampicillin als Antibiotikum

Bei Ampicillin handelt es sich um eines der halbsynthetischen Penicilline, die besonders in der Bekämpfung von Harnwegsinfektionen eine bedeutende Rolle spielen. Zu den wichtigsten Eigenschaften gehört, daß es praktisch atoxisch ist. Dosen von 15 g und mehr pro Tag wurden von Erwachsenen anstandslos toleriert. Daneben werden Keime in ihrem Wachstum nicht nur gehemmt, sondern auch irreversibel geschädigt, und zwar schon bei Konzentrationen, die nur wenig über der MIC liegen. Bei einer von 5,0 mcg/ml wird die Anzahl der lebensfähigen Keime bei *E. coli* von 10^8 Keime/ml auf 10^2 Keime/ml innerhalb von 24 Stunden herabgesetzt. (20,28)

Der wesentliche Vorteil des Ampicillins liegt in seinem breiten Wirkungsspektrum. Es erfaßt neben grampositiven auch gramnegative Erreger und ist damit den klassischen Penicillinen überlegen. Gegenüber einigen grampositiven Erregern ist die Wirkungsintensität allerdings um einen Faktor 2-4 geringer, als die von Penicillin G und V. (22,32,34)

Hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften von Ampicillin ist seine Stabilität im gelösten Zustand zu beachten. Die Anfälligkeit der Penicilline ist auf eine Instabilität des β -Lactamringes zurückzuführen. Die Geschwindigkeit der Zersetzung steigt mit zunehmender Temperatur und wird durch Hydroxyl- und Hydroniumionen ge-

fördert. Bei Lösungen des Ampicillin-Natriumsalzes tritt bei Konzentrationen von 1-5 % und bei Temperaturen von 23° C bei einem PH von 9,5 ein Wirkungsverlust von 15-20 % ein. Eine relative Stabilität der Ampicillinlösungen ist bei einem PH von 5,5 bis 7,5 gewährleistet, wobei das Maximum der Stabilität bei einem PH von 6,5 liegt. (17) Bei den Versuchen mit Ampicillin wurde der PH-Wert mit einem Phosphatpuffer konstant bei 6,5 gehalten.

2) Resorption und Serumspiegel

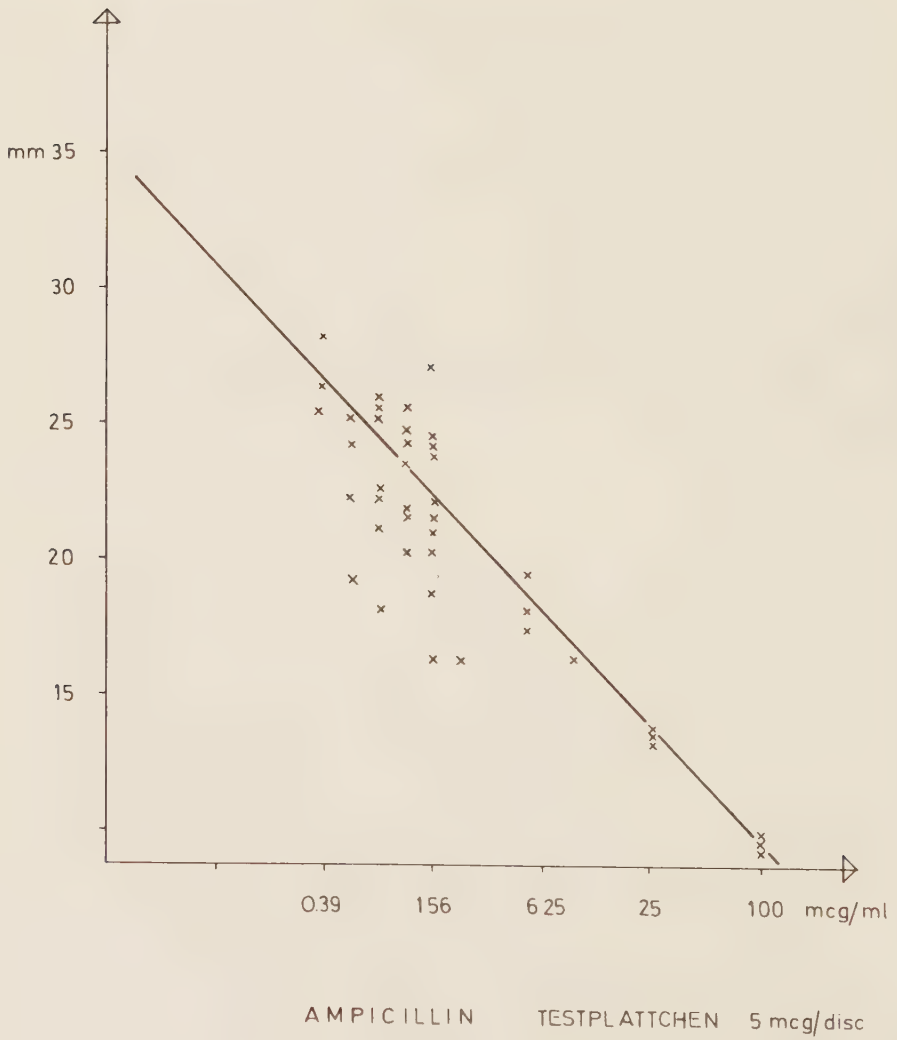
Von besonderem Interesse ist vor allem der erreichbare Serumspiegel, da dieser in Bezug auf das bakteriologische Testergebnis das ausschlaggebende Kriterium für einen therapeutischen Einsatz der Substanz darstellt.

Nach oraler Gabe werden die Serummaxima nach 1-2 Stunden erreicht, nach intravenöser Applikation schon etwa nach 1/2 bis 1 Stunde. Außerdem liegt bei intravenöser Gabe die Serumspiegelspitze etwa 10 mal höher als bei oraler Gabe. Am Ende einer Dauertropf-Infusion von 10 g Ampicillin wurden über 2 Stunden anhaltende Serumwerte von mehr als 70 mcg/ml gemessen. Nach zusätzlicher Gabe von Probenicid waren sogar Serumwerte von 160 mcg/ml zu erreichen. Ampicillin wird auch in dieser hohen Dosierung ohne Nebeneffekte vertragen. (22) Diese Serumwerte müssen nun mit den Testergebnissen aus der Resistenzprüfung im Bakteriologischen Labor korreliert werden. Bei Ampicillin als einer bakterizid wirkenden Substanz ist es besonders angezeigt, die Testergebnisse als MIC und nicht als Hemmzonendurchmesser anzugeben.

3) Ergebnisse und Diskussionen des Ampicillintests

Für Ampicillin wurden drei Regressionsgeraden erstellt. Bei Abb. 4 wurden beim Hemmhofstest Papierblättchen mit einer Beschickung von 5 mcg/disc verwendet. Bei Abb. 5 wurden Testtabletten mit 15 mcg/Tabl., die Papierblättchen mit einer Beschickung von 5 mcg/disc entsprechen, und Testtabletten mit 75 mcg/Tabl., die einer Beschickung von 25 mcg/disc entsprechen, verwendet. Die Versuche mit den Testtabletten an Stelle der sonst üblichen Filzblättchen wurden mit einem neu ausgewählten Keimkollektiv durchgeführt. Alle Testergebnisse wurden in einer zweiten Versuchsreihe überprüft.

Abb. 4: Regressionsgerade für Ampicillin mit 50 E. coli Stämmen



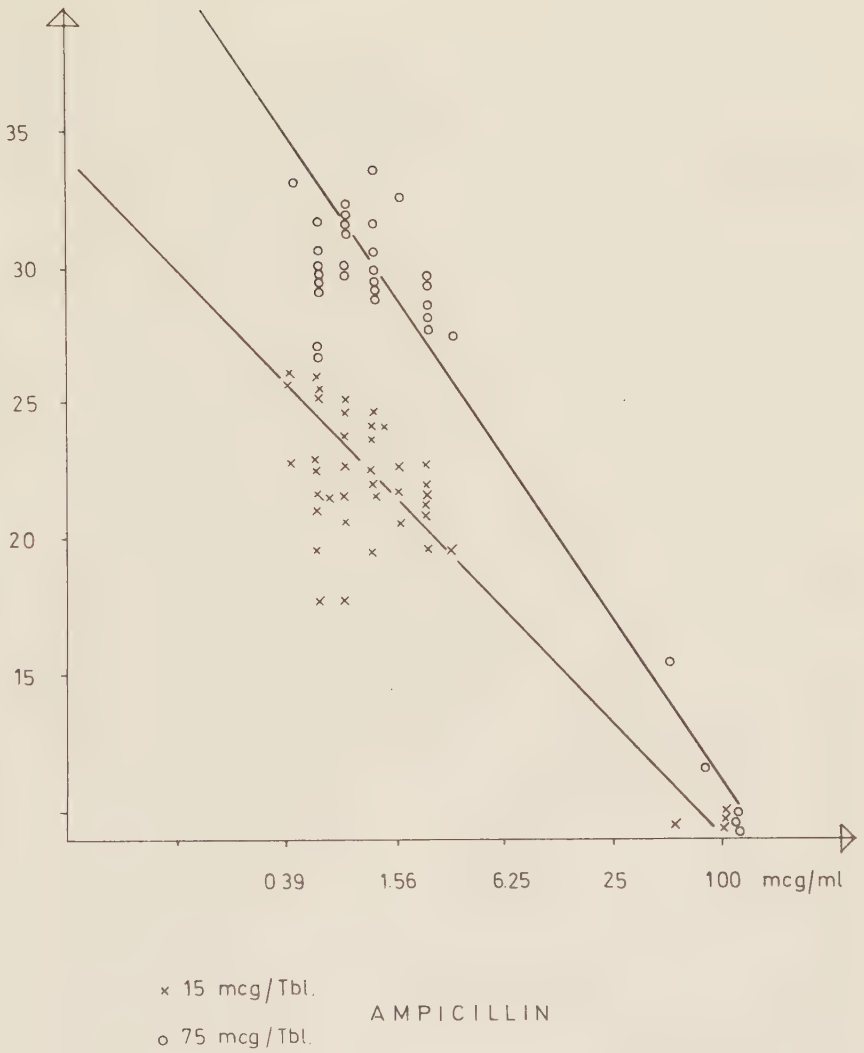


Abb. 5: Regressionsgeraden für Ampicillin mit *E. coli* Stämmen

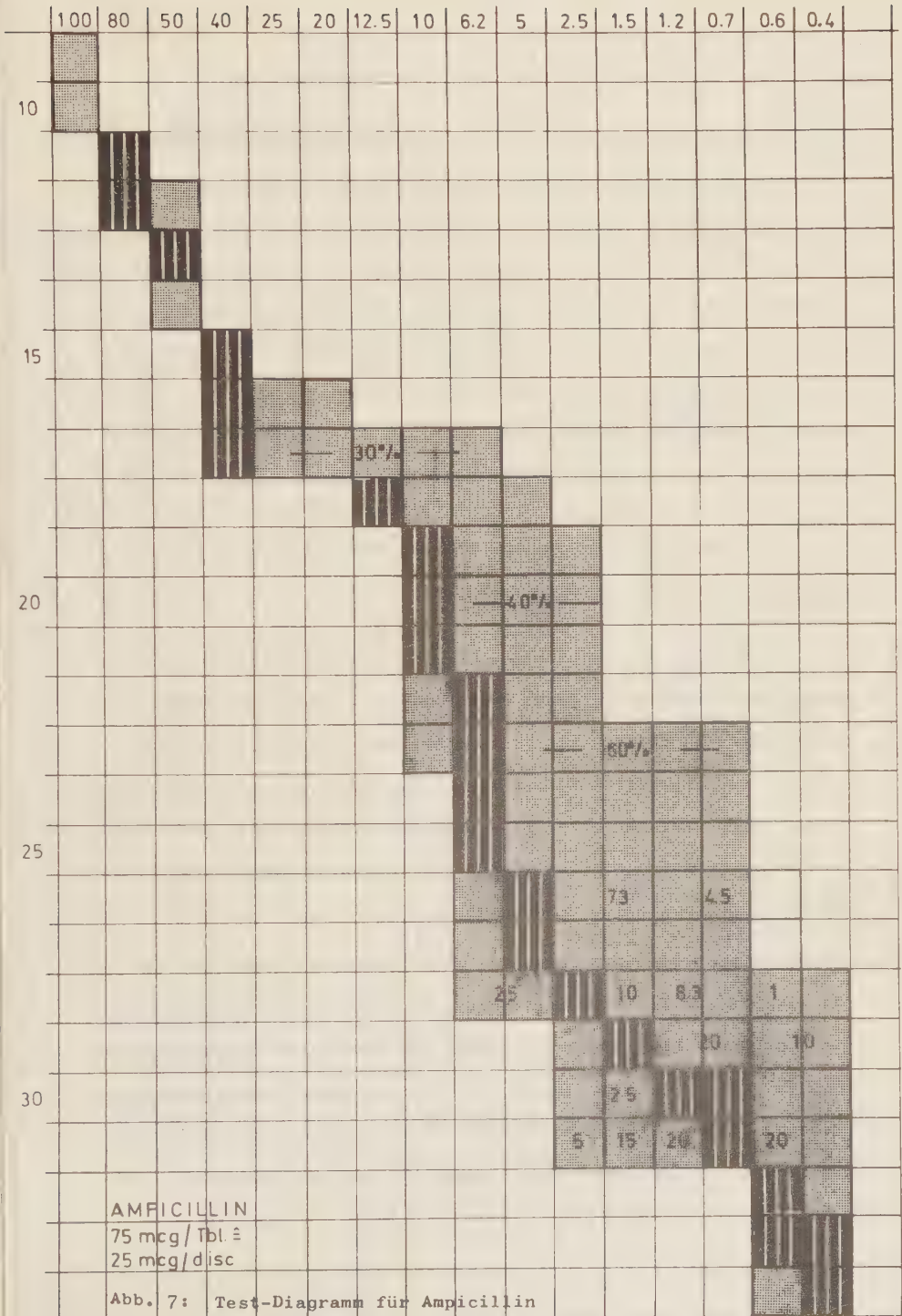
Die Regressionskurven, die mit äquivalenten Testblättchen und Testtabletten erstellt wurden, stimmen überein. Beide Tests ergaben somit eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei den vorgeschriebenen Standards.

Wie sich schon in den Vorversuchen zur Standardisierung der Hemmhoftests zeigte, ist es nicht möglich, einem genau definierten Wert aus dem Reihenverdünnungstest einen einzigen Hemmzonendurchmesser gegenüberzustellen. Erstens ist es schon nicht möglich, einen exakten Wert der MIC anzugeben, da der Reihenverdünnungstest nur aussagt, daß die genaue MIC eines getesteten Keimes sicher kleiner ist als der MIC, der angegeben werden kann (vgl. dazu auch B/IV). Zweitens ist die Reproduzierbarkeit der Hemmzonendurchmesser selbst bei genauester Einhaltung der Versuchsparameter nicht genügend zuverlässig. Es muß mit einer Streuung der Werte von mindestens 1-2 mm gerechnet werden. Es hat keine praktische Bedeutung für die Routinetestung, einen Hemmhofwert bis auf Zehntel Millimeter genau anzugeben, wie es in einigen Arbeiten zu finden ist. (8,16,29)

Die Regressionskurve, die mit Hilfe der Tests erarbeitet wurde, ist also keineswegs im Sinne einer Eichgeraden zu verstehen, mit deren Hilfe auf Grund von Hemmzonendurchmessern die zugehörige MIC eines Keimes exakt abgelesen werden kann. Sie dient lediglich dazu, einen generellen Zusammenhang der Ergebnisse aus dem Reihenverdünnungstest und dem Agardiffusionstest zu demonstrieren. Wie aus den Abb. 4 und 5 zu entnehmen ist, würde ein Ablesen der MIC's auf Grund der ermittelten Hemmzonenwerte im unteren Bereich der Geraden schon bei

wenigen Millimetern große Veränderungen in den zugehörigen MIC's verursachen. Die Ergebnisse sind also schwer mit Hilfe einer graphischen Darstellung aufzuzeigen, und deshalb wurde eine Darstellung in einem Diagramm bevorzugt (siehe Abb. 6 und 7).

MIC mcg/ml



Die obenstehenden Werte in Abb. 6 gelten für Ampicillin-Testblättchen mit einer Beschickung von 5 mcg/disc und für Ampicillin-Testtabletten mit einer Beschickung von 15 mcg/Tabl.

Für die Testtabletten mit einer Beschickung von 75 mcg/Tabl. gelten andere Verhältnisse, da diese im Agardiffusionstest eine Substanzmenge freisetzen, die nach Angaben der Hersteller einer Blättchenbeschickung von 25 mcg/disc entspricht. Es wurden deshalb in einer erneuten Testreihe die Beziehung zwischen MIC und Hemmzonengrößen ermittelt. Die zugehörige Regressionslinie findet sich in Abb. 5.

4) Zur Verwendung der Diagramme

Sie stellen den Versuch dar, die Hemmzonendurchmesser mit den minimalen Hemmkonzentrationen zu korrelieren. Für jeden Hemmzonendurchmesser findet sich ein bestimmter Hemmbereich, in dem die exakte MIC des getesteten Keimes liegt. Die schwarz ausgezeichneten Felder geben die häufigsten MIC-Werte an, die für einen bestimmten Hemmhofdurchmesser gefunden wurden. Die schraffierten Flächen zeigen die Streubreite der Meßergebnisse auf.

Der Mittelwert aus beispielsweise drei erhaltenen Hemmhofwerten ist mit einem schwarzen Feld in Übereinstimmung zu bringen. Dann kann die zugehörige MIC abgelesen werden. Nun werden die Einzelmessungen noch verarbeitet. Liegen Werte über dem auf einen ganzen Hemmzonendurchmesser auf- oder abgerundeten Mittelwert, so ist die genaue MIC rechts von den schwarzgezeichneten Feldern zu finden und umgekehrt.

An einem konkreten Beispiel stellt es sich folgendermaßen dar:

Ein Testergebnis mit Ampicillin-Testblättchen mit einer Beschreibung von 25 mcg/disc lautet: Hemmzonendurchmesser 27 27 28

Die zugehörige MIC ist bei 27 mm 5,00 mcg/ml

Da jedoch eine Hemmzone größer als 27 mm ist, liegt die genaue MIC im Bereich zwischen 5,00 und 2,5 mcg/ml

Würde das Ergebnis 27 27 26 lauten, so würde sich die MIC zu größeren Werten verschieben, also 5,00 bis 6,2 mcg/ml

Selbstverständlich würde eine Verwendung einer größeren Anzahl Testblättchen für die MIC-Bestimmung noch genauere Aussagen zulassen.

E. VERSUCHE MIT CARBENICILLIN

1) Carbenicillin, ein halbsynthetisches Penicillin

Ebenso wie Ampicillin, gehört auch Carbenicillin zu den halbsynthetischen Penicillinen und ist aus der Therapie der Harnwegsinfekte nicht mehr wegzudenken. Bei allen bakteriellen Harnwegsinfekten sollte neben Ampicillin und Cephalotin auch Carbenicillin im Antibiogramm mitgetestet werden. (14,18,24) Carbenicillin ist, wie Ampicillin, ein halbsynthetisches Derivat der 6-Aminopencillansäure und wurde von den BEECHAM-RESEARCH-LABORATORIES in England entwickelt. Da es besonders gegen die zunehmenden Infektionen mit *Pyocyaneus* wirksam ist, wird es bei der Therapie der Pyelonephritiden mit Eliminationseinschränkung in zunehmendem Maß eingesetzt. Es ist geeignet, eine therapeutische Lücke zu schließen, da die ebenfalls wirksamen Präparate der Polymyxingruppe (Polymyxin-B und Colistin) mit ihren nephrotoxischen Eigenschaften, sowie das ototoxische Gentamycin bei Eliminationseinschränkungen erhebliche Zurückhaltung verlangen und in vielen Fällen sogar kontraindiziert sind. Nach Angaben der Literatur eignet es sich zur Behandlung von Infekten, die durch grampositive Kokken, als auch durch gramnegative Stäbchen verursacht werden. Carbenicillin ist ein bakterizides Antibiotikum von verhältnismäßig geringer Toxizität und ist wirksam bei Infektionen, bei denen die Anwendung von Ampicillin und Cephalotin erfolglos bleibt. Hinsichtlich der Toxizität werden lo-

kaler Druckschmerz und reversible Entzündungen an der Injektionsstelle bei i.m. Applikation beschrieben. Bei Tierversuchen kam es zu Oedemen und Nekrosen, so daß für eine Therapie in hoher Dosierung nur eine i.v. Applikation in Frage kommt. Dann wird Carbenicillin ohne Schmerzen und lokale Reizerscheinungen vertragen. (1,21)

Ein besonderer Aspekt in der Behandlung mit Carbenicillin liegt darin, daß es bei der Anwendung gegen *Pseudomonas aeruginosa* zu einer Potenzierung der Wirksamkeit kommt, wenn Carbenicillin mit Gentamycin kombiniert wird. (14,27,25) Gegen penicillinasebildende Staphylokokken erweist sich Carbenicillin bei Konzentrationen von 6,25 bis 25 mcg/ml als noch inhibitorisch wirksam. (7,21,18)

Die physikalischen Eigenschaften entsprechen in etwa denen des Ampicillins. Bei Lagerung in wässriger Lösung bei einem PH-Wert von 7,0 und - 15° C kommt es innerhalb von acht Tagen zu einem Wirkungsverlust von ca. 20 %. Bei den Experimenten wurden nach Angaben der Hersteller ein Phosphatpuffer mit einem PH-Wert von 7,2 verwendet. Die Carbenicillin-Standardlösung wurde täglich frisch angesetzt.

2) Wirkstoffkonzentration im Serum

Nach ca. 2 Stunden nach Injektion von 1000 mg werden Serumspiegelwerte von durchschnittlich 16,4 mcg/ml, bei Verabreichung von 2000 mg 26,8 mcg/ml erreicht. Nach Untersuchungen von ACRED et. al. wird Carbenicillin vorwiegend tubulär eliminiert, da sich

mit gleichzeitiger Anwendung von Probenicid eine kumulative Steigerung der Blutspiegel erreichen läßt. Bei gleicher Dosierung sind die Werte etwa doppelt so hoch. Bei i.v. Infusion von 12-30 g/die und gleichzeitiger Gabe von 3 g Probenicid werden Serumspiegel zwischen 168 und 400 mcg/ml erreicht. (1,26)

3) Ergebnisse und Diskussion des Carbenicillintests

Beim Carbenicillintest wurden, genauso wie beim Ampicillintest, die Minimal Inhibition Concentration (MIC) aus den Reihenverdünnungstests auf Hemmzondurchmesser bezogen. Da in der Literatur über Carbenicillin die starke Abhängigkeit von MIC-Wert und Inokulationsdichte immer wieder betont wird, wurde bei den Versuchen mit Carbenicillin entsprechend der Empfehlung der WHO ein Inokulum mit $0,5 \times 10^6$ Keime/ml verwendet. Alle übrigen Standards wurden, wie beim Ampicillintest, beibehalten. (1,21,27) Für Carbenicillin wurden zwei Regressionskurven ermittelt, da der Hemmhofest einmal mit einer Testblättchenbeschickung von 100 mcg/disc und einmal mit 400 mcg/disc durchgeführt wurde. Da für den Test Blättchen mit verschieden hoher Beschickung zur Verfügung standen, bestand die Möglichkeit, gleichzeitig zu untersuchen, wie eine höhere oder niedrigere Beschickung sich auf den Hemmhofest hinsichtlich seiner Aussagekraft und Genauigkeit auswirken. Alle Stämme wurden zweimal getestet. Eine Ergebnistabelle findet sich im Anhang. Es wurden nach demselben Prinzip wie bei Ampicillin Regressionsgeraden erstellt und die Ergebnisse miteinander verglichen.

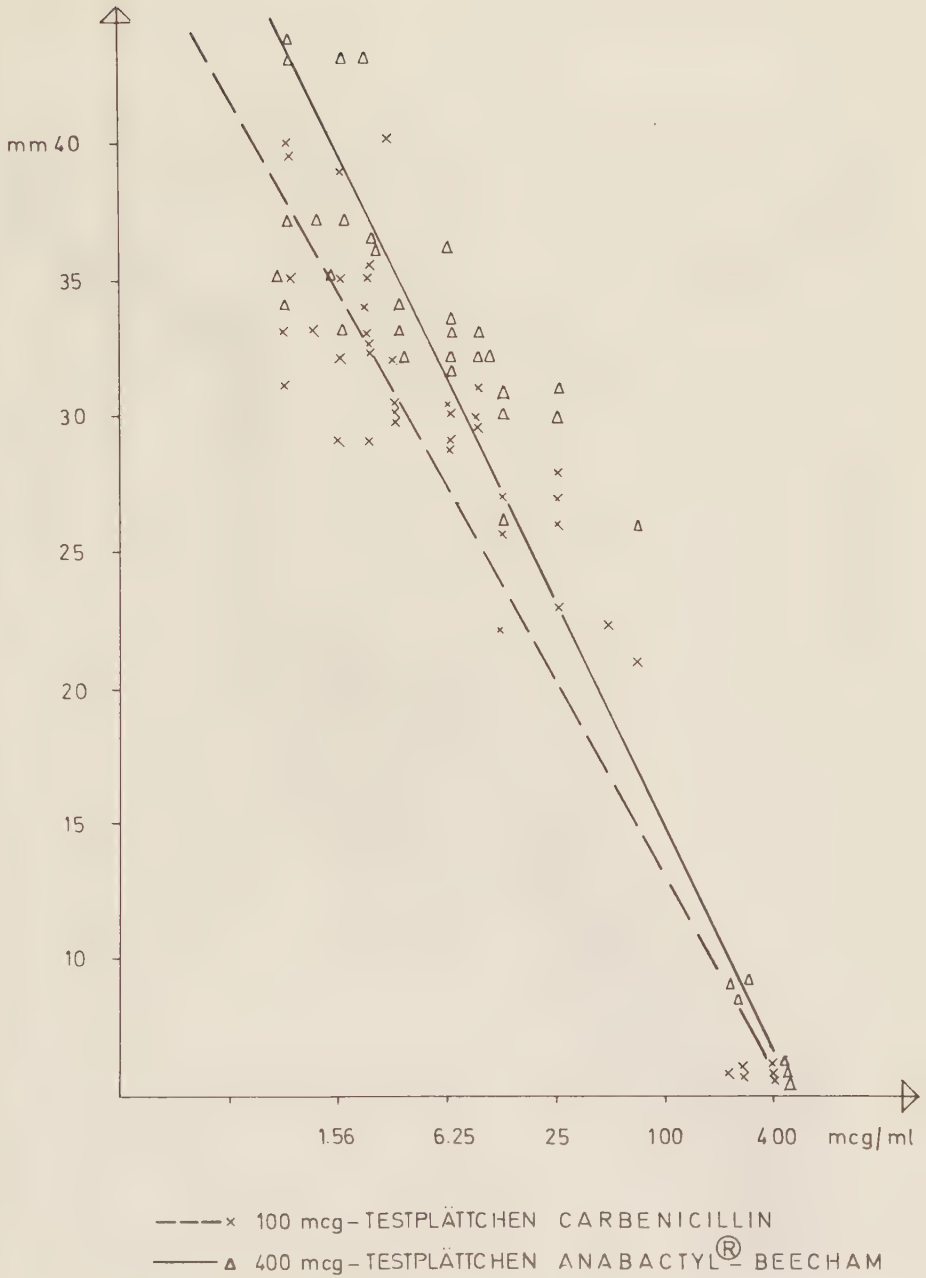


Abb. 8: Regressionsgeraden für Carbenicillin mit E. coli Stämmen

Die Ergebnisse zeigen, daß bei Carbenicillin offensichtlich ein günstigerer Zusammenhang zwischen den Ergebnissen aus dem Reihenverdünnungstest und dem Hemmhofstest besteht, als bei Ampicillin.

Die Streuung der einzelnen Werte aus dem Hemmhofstest ist nicht so groß wie beim Ampicillin, und die einzelnen MIC-Werte sind leichter einem Hemmzonendurchmesser zuzuordnen. Möglicherweise ist die Ursache dafür bei den höher beschickten Testblättchen zu suchen.

Während die höchsten Stoffmengen beim Ampicillintest bei 5 bis 25 mcg/disc lagen, wurden beim Carbenicillintest Testblättchen mit einer erheblich höheren Beschickung (100 bis 400 mcg/disc) verwendet. Trotzdem wurde auch beim Carbenicillintest eine Gegenüberstellung von Hemmzone und Hemmbereich im Diagramm bevorzugt.

Abb. 9: Test-Diagramm für Carbenicillin

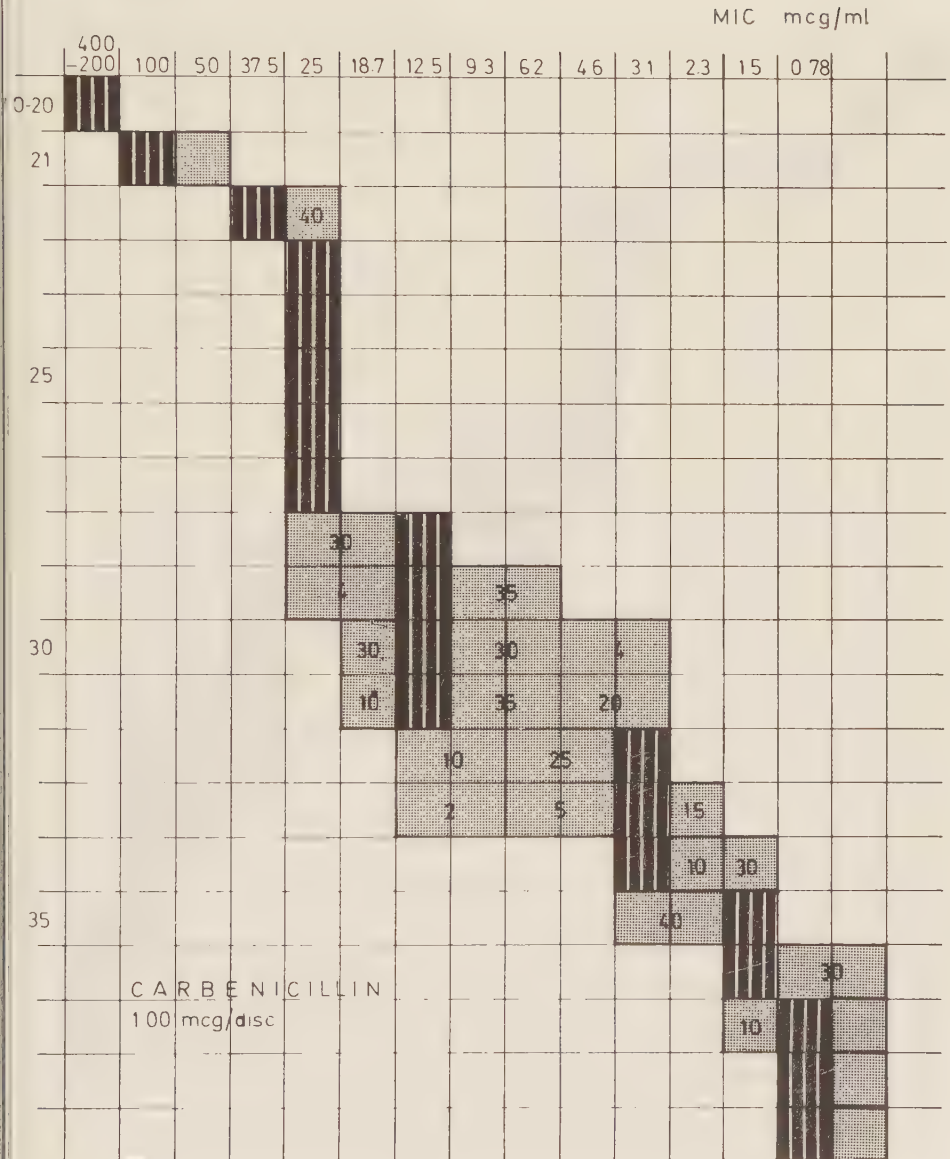
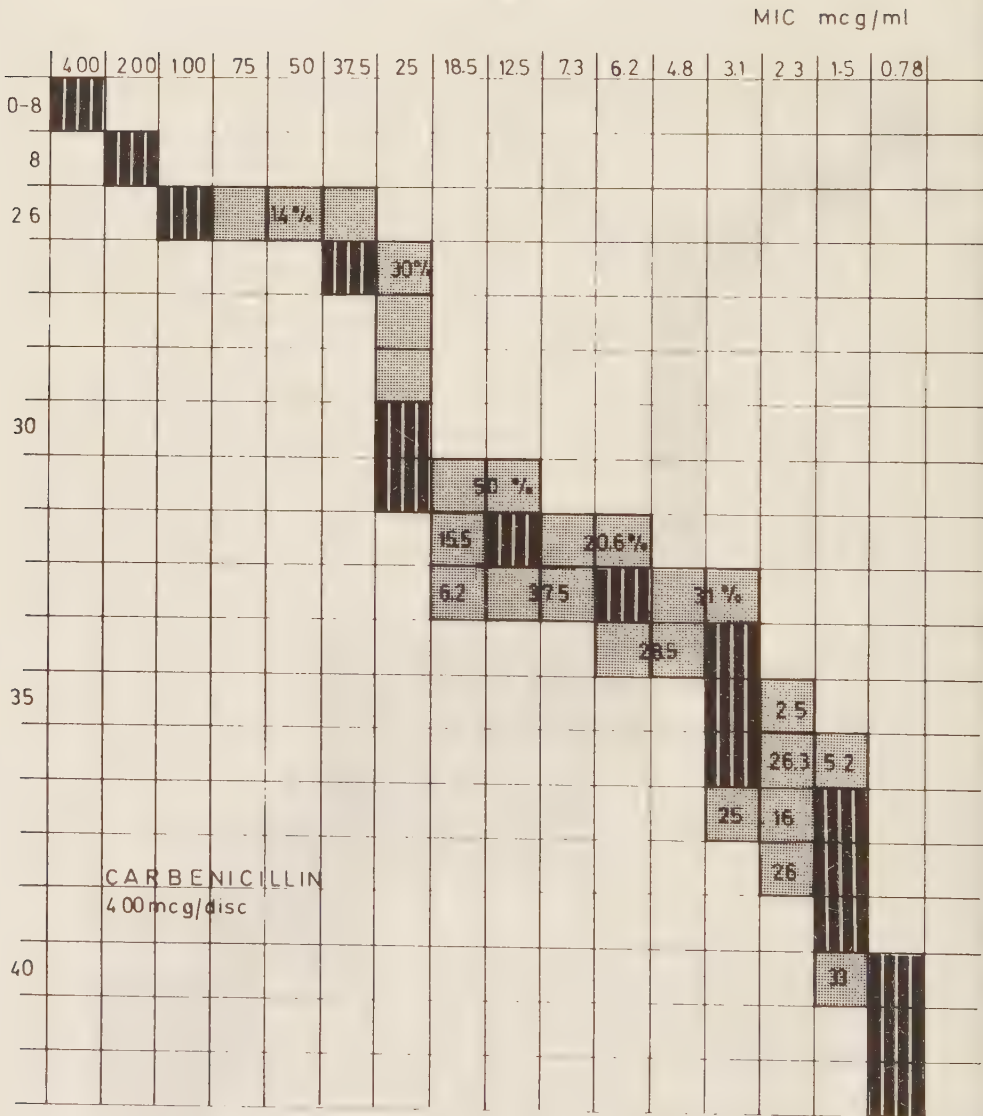


Abb. 10: Test-Diagramm für Carbenicillin



Aus einem Vergleich der beiden Testreihen mit 100 mcg- und 400 mcg-Testblättchen ergeben sich zwei Gesichtspunkte. Bei den 400 mcg/disc-Testblättchen ist die Streuung der Hemmzonenwerte, wenn auch nur geringfügig, so doch deutlich kleiner. Der andere wesentliche Punkt ist, daß bei den 400 mcg/disc Keime noch einen Hemmhof zeigen, die bei den 100 mcg-Testblättchen keine Hemmzone mehr ausbilden und somit als resistent angesehen werden müssen. Nach H. NEUSSEL (24) ist bei der Verwendung von 100 mcg-Testblättchen eine gute Übereinstimmung von Ergebnissen aus dem Reihenverdünnungstest und dem Agardiffusionstest zu beobachten. Er räumt aber auch gleichzeitig ein, daß 25 Stämme von 245 getesteten, im Blättchentest resistent waren, die nach dem Ergebnis des Reihenverdünnungstests mit Hemmwerten von 100 bis 400 mcg/ml noch als empfindlich anzusehen sind. Diese Lücke im Antibiotogramm kann nach meinen Erfahrungen mit 400 mcg-Testblättchen befriedigend geschlossen werden. Alle Stämme, deren MIC-Werte über 400 mcg/ml lagen, erwiesen sich auch beim Agardiffusionstest mit 400 mcg/disc als resistent. Eine Verwendung von Blättchen mit 100 mcg/disc würde den Sensibilitätsbereich von Carbenicillin einschränken, denn Keime mit einer MIC von 100 bis 400 mcg/ml werden nicht mehr erfaßt.

Eine Wertbemessung für therapeutische Zwecke wird durch einen Vergleich der antibakteriellen MIC-Werte mit den erreichbaren Blutspiegeln möglich. Eine normale Dosierung von 1-2 g/die reicht aus, um Blutspiegelwerte zu erreichen, die den Hemmwerten von 70 % E. coli entsprechen. Die therapeutische Sensibilität für Carbenicillin

liegt in "normaler Dosierung" bei einer MIC von 25 mcg/ml, für den Sonderbereich "hohe Dosierung" (15-30 g/die und Probenicid) bei 50 bis 400 mcg/ml.

Um die therapeutische Einsetzbarkeit von Carbenicillin vollständig erfassen zu können, muß das Antibiotogramm auf diese hohen Werte abgestimmt sein. Die Testblättchen mit 100 mcg/disc haben sich bei meinen Untersuchungen für diesen Bereich der geringeren Sensibilität als insuffizient erwiesen. Außerdem ist noch zu beachten, daß die kombinierte Anwendung von Carbenicillin und Gentamycin zu einem Wirkungssynergismus führt und dadurch auch höhere MIC-Werte in den Bereich der therapeutischen Möglichkeiten rücken. (14,21,35)

F. VERSUCHE MIT CEPHALOTIN

1) Eigenschaften des Cephalotins

Cephalotin ist ein Derivat der 7-Aminocephalosporansäure und wurde in Analogie zur Herstellung der halbsynthetischen Penicilline entwickelt. Der Wirkungsmechanismus ist der gleiche, wie bei den Penicillinen. Ein besonderes Merkmal ist die hohe Stabilität gegen Penicillinase und die geringe allergische Wirkung. Keimproduktionen werden durch mittlere und niedrige Konzentrationen je nach Empfindlichkeit erreicht. Baktericidie kann aber erst bei hohen Konzentrationen von etwa 20 mcg/ml erreicht werden. (23,24,32,33,36)

Das Wirkungsspektrum umfaßt nach Studien in vitro und nach klinischer Erprobung vor allem grampositive und einige gramnegative Keime (33,36). Das Breitbandantibiotikum Cephalotin ist aufgrund seiner pharmakologischen Eigenschaften (hohe Serum-, Urin- und Nierengewebsspiegel, keine Nephrotoxizität) besonders für die Therapie von Infekten der Nieren und ableitenden Harnwege geeignet. (7)

Hinsichtlich der Toxizität und Verträglichkeit ist zu erwähnen, daß es bei der Hälfte der Probanden zu einem brennenden Schmerz an der Injektionsstelle kam. Allergische Reaktionen mit Urticaria und Eosinophilie werden im Schrifttum mit weniger als 5 % angegeben. Von besonderem Interesse ist dabei, daß Patienten mit bekannten Überempfindlichkeiten gegen Penicillin eine Therapie mit Cephalotin reak-

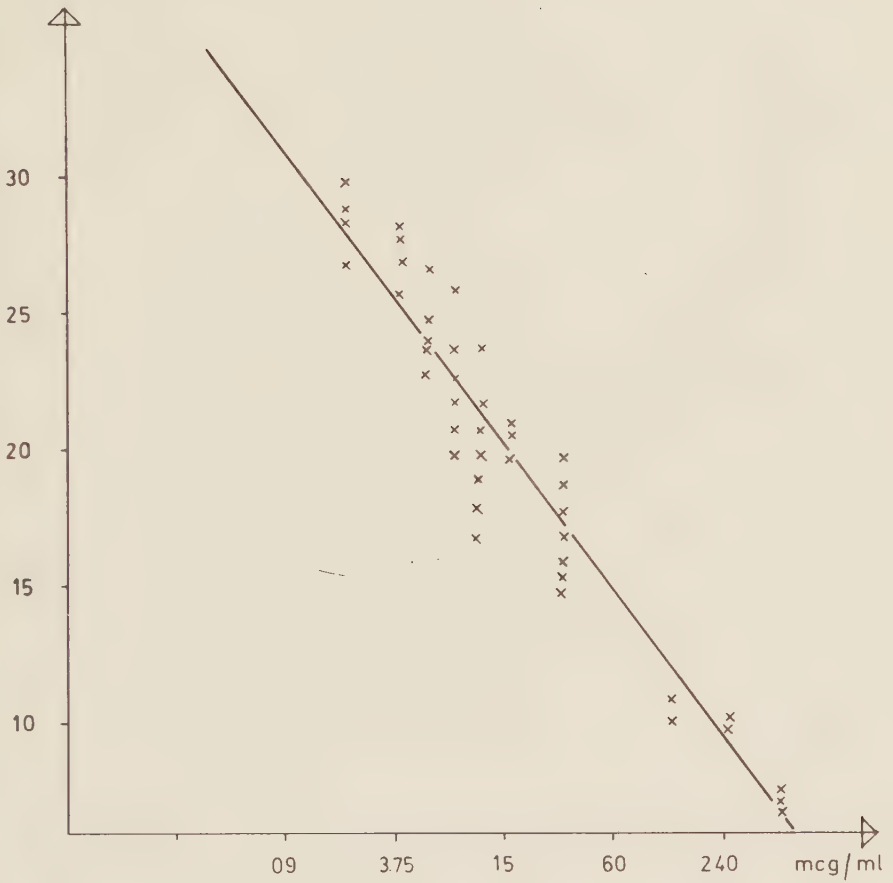
tionslos vertragen wurde. (15,23) Cephalotin kann jedoch auch selbständig bei hoher Dosierung in wenigen Fällen zu allergischen Reaktionen und zu Depressionen des weißen Blutbildes führen. Alle Reaktionen auf Cephalotin werden von den Untersuchern übereinstimmend als atoxisch beschrieben. Von den physikalischen Eigenschaften ist zu erwähnen, daß Cephalotin als Trockensubstanz sehr stabil ist. In einer Pufferlösung bei PH 6,5 und 4° C beträgt der Wirkungsverlust innerhalb von acht Tagen ca. 10 %. (23)

2) Serumspiegel

Die Serumkonzentration von Cephalotin liegt bei einmaliger Gabe von 500 mg bei 10,0 mcg/ml, bei 1000 mg bei 20,0 mcg/ml und fällt innerhalb von etwa 8 h auf 0,1 mcg/ml ab. Die Verdoppelung der Dosis führt also zu einer Verdoppelung der resultierenden Serumspiegel. Die Halbwertszeit liegt bei ca. 40 Minuten. Unter gleichzeitiger Gabe von Probenicid kann der Serumspiegel verdoppelt werden. (7,23)

3) Ergebnis und Diskussion des Cephalotintests

Die Standards, unter denen die Cephalotin Sensibilitätstests abliefen, waren die gleichen, wie bei Ampicillin. Bei den Reihenverdünnungstests waren die höchsten Konzentrationen bei 40 mcg/ml. Alle Keime, die über 40 mcg/ml lagen und trotzdem noch einen defi-



30 mcg/disc CEPHALOTIN

Abb. 11: Regressionsgerade für Cephalotin mit E. coli Stämmen

nierten Hemmhof zeigten, wurden erneut einem Reihenverdünnungstest unterzogen, um die MIC genau festzustellen. Die höchsten Konzentrationen lagen bei diesem Test bei 250 mcg/ml. Deshalb sind in der Graphik der Regressionsgeraden MIC-Werte bis 250 mcg/ml eingezeichnet. Die Beschickung der Testblättchen war 30 mcg/disc.

Die Werte aus Hemmhoftest und Reihenverdünnungstest sind gut miteinander zu korrelieren. NAUMANN (23) lehnt Blättchen mit einer Beschickung von 30 mcg ab und kommt mit 15 mcg/disc Testblättchen zu zuverlässigen Ergebnissen. 30 mcg ergaben im Vergleich zum Reihenverdünnungstest Sensibilität für Keime, deren MIC bereits eindeutig resistent waren. WARNECKE (33) fand sowohl für 15 mcg als auch für 30 mcg Blättchen bei grampositiven Stämmen im wesentlichen den gleichen Anteil an empfindlichen Stämmen. Nur bei Coli-Keimen ist der Empfindlichkeitsgrad niedriger. Auf diese Diskrepanz wurde schon in der Einführung hingewiesen, und im DISC SENSITIVITY TESTING (29) wird ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Aussage, ein Keim war gegen ein 30 mcg Cephalotin-Testblättchen sensibel, nicht zulässig ist und zu schweren Fehlern in der Beurteilung des Hemmhoftests führt. Hemmzonendurchmesser müssen also einem MIC-Wert zugeordnet werden. RYAN schreibt nach vergleichenden Untersuchungen mit Cephalotin im Agardiffusions- und Agardilutionstest, daß bei genauer Einhaltung der Standards "der Hemmzonendurchmesser in der Tat ein Maß für die MIC eines Keimes ist".

Wie die Darstellung der Regressionsgeraden zeigt, ist sie im Vergleich mit Carbenicillin oder gar Ampicillin am ehesten als "Eichgerade" zu akzeptieren. Trotzdem wurden auch hier der Einheitlichkeit wegen die Ergebnisse in Form eines Diagramms genau aufgeschlüsselt.

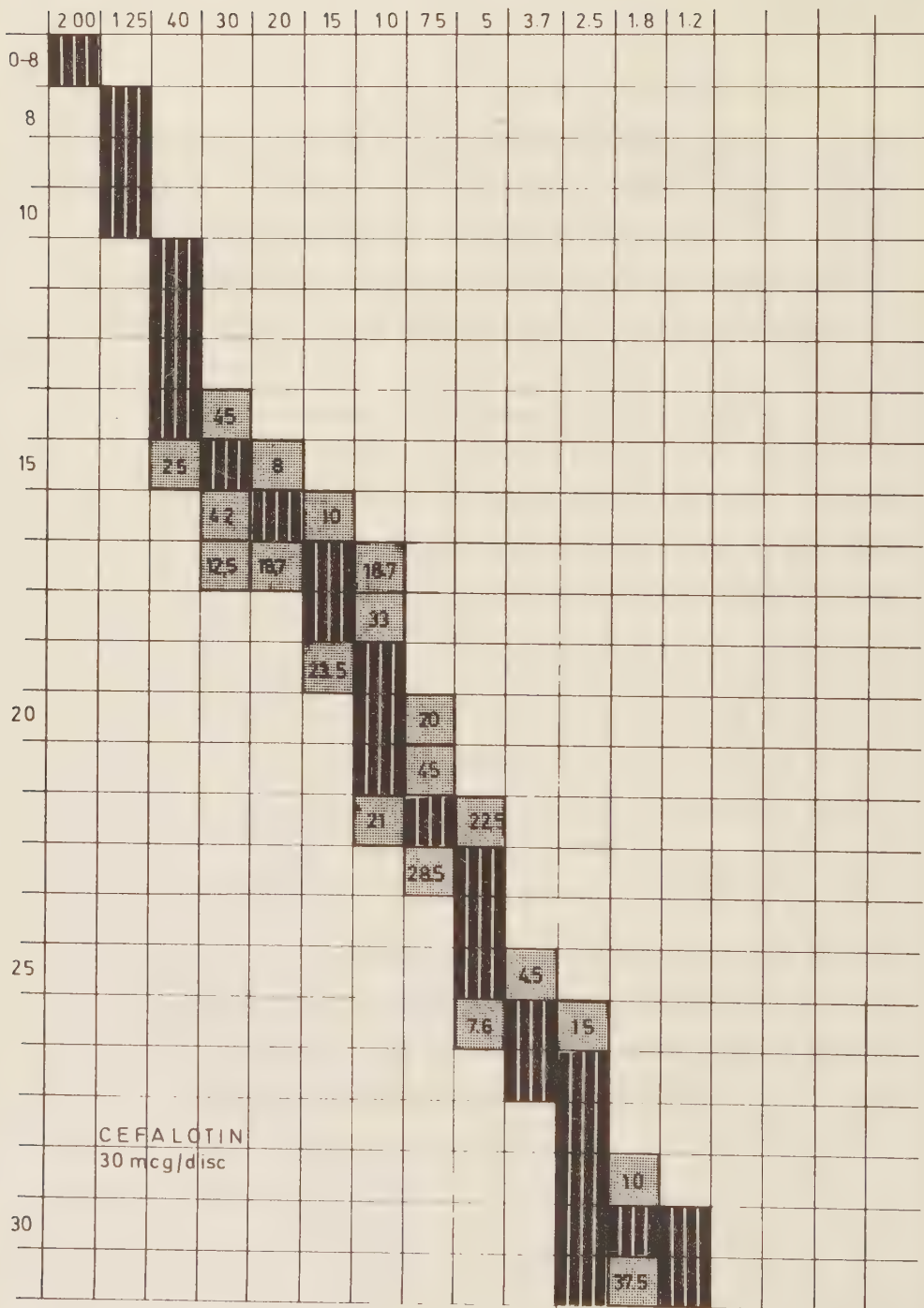


Abb. 12: Test Discs - Cefalotin

G. Statistische Betrachtung der Versuchsergebnisse

Bei der genauen Betrachtung der erhaltenen Meßergebnisse wird deutlich, daß die festgestellten MIC-Werte bzw. Hemmzonendurchmesser gewissen Variationen unterliegen. Trotz genauester Einhaltung der Versuchsbedingungen kommt es zu Streuungen der Meßwerte. Dies ist höchstwahrscheinlich auf den "biologischen Faktor", der das individuelle Wachstum der einzelnen Keime darstellt, zurückzuführen.

Geht man von einer definierten MIC aus, so erhält man bei Mehrfachtestungen eine Gruppe, innerhalb eines bestimmten Bereichs, variierender Hemmzonendurchmesser. Die Streubreite um einen Mittelwert nimmt mit zunehmender Größe des Hemmzonendurchmessers zu. Dies ist offensichtlich auf eine nur mehr unzureichende Diffusion der Substanz in der weiteren Peripherie zurückzuführen. (siehe dazu B/VI)

Aus jeder MIC resultiert eine Gruppe von Hemmzonendurchmessern, die sich in ihren absoluten Meßzahlen und Häufigkeiten als eine Normalverteilung im Sinne einer Gauß'schen Verteilung der Meßwerte darstellen.

Für jede MIC findet sich ein bestimmter Hemmzonendurchmesser, der am häufigsten auftritt. Umgekehrt ist auch für jeden Hemmzonendurchmesser ein häufigster MIC-Wert zu finden.

Am Beispiel der Ampicillintestung mit 5 mcg/disc Testblättchen wurde die Verteilung untersucht. Dabei ergaben sich folgende Daten:

MIC	Mittelwert HH-Durchmesser	Standard- abweichung
25.00 mcg/ml	11.83	0.69
5.00 mcg/ml	15.50	0.87
3.12 mcg/ml	19.75	1.77
2.5 mcg/ml	21.00	1.68
1.56 mcg/ml	21.75	1.42
1.25 mcg/ml	21.58	1.65
0.78 mcg/ml	21.90	1.93
0.62 mcg/ml	22.67	2.05
0.31 mcg/ml	27.25	2.48

Berechnet wurden die Werte nach:

$$\text{Standardabweichung} : s = \frac{1}{N} \sqrt{N \sum f x^2 - (\sum f x)^2}$$

Wie aus den Werten zu ersehen ist, kommt es zu einer erheblichen Streubreite bei den Messungen mit Ampicillin, die eine Darstellung der Meßergebnisse in Form einer Regressionsgeraden als nicht mehr befriedigend erscheinen läßt.

So erschien es mir notwendig, die Korrelation von Hemmzonendurchmesser und MIC-Werten aus dem Reihenverdünnungstest mit statistischen Methoden zu untersuchen.

Für jede Substanz wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Die Basiswerte waren die für jeden Hemmhof ermittelten häufigsten MIC-Werte, die in den betreffenden Diagrammen als dunkle Felder ausgezeichnet sind.

Zur Verwendung kam die Rangreihenkorrelation nach SPEARMAN

Der Korrelationskoeffizient wurde nach

$$r = 1 - \frac{6 \sum d^2}{N(N^2 - 1)}$$

errechnet.

Dabei ergaben sich folgende Werte:

Korrelationskoeffizient:

AMPICILLIN	5 mcg/disc TB	- 0.5645
AMPICILLIN	75 mcg/Tbl.	- 0.6119
CARBENICILLIN	100 mcg/disc	- 0.5313
CARBENICILLIN	400 mcg/disc	- 0.5318
CEFALOTIN	30 mcg/disc	- 0.6311

Die Korrelationskoeffizienten sind sämtlich signifikant kleiner als Null, d.h. eine kleine minimale Hemmkonzentration ergibt einen großen Hemmzonendurchmesser und umgekehrt. Die Korrelation zwischen Hemmzonendurchmesser und MIC ist gut. Die günstigsten Werte ergaben sich bei Cephalotin, wie es schon nach der Regressionsgeraden zu erwarten war. Bei Cephalotin ist somit eine gute Korrelation zwischen Reihenverdünnungstest und Hemmhoftest festzustellen.

Außerdem ist noch auffällig, daß es bei der Verwendung von Test-tabletten mit einer Beschickung von 75 mcg/Tbl, die einem Test-blättchen mit einer Beschickung von 25 mcg/disc entsprechen, zu einer deutlich besseren Korrelation kommt, als bei der Verwen-dung von 5 mcg/disc Testblättchen.

Für die Ampicillintestung sind meiner Meinung nach also Testblätt-chen mit einer Beschickung von mindestens 25 mcg/disc den 5 mcg/disc Blättchen vorzuziehen.

Bei Carbenicillin ist dagegen bei einem Vergleich der 100 und 400 mcg/disc Testblättchen kein wesentlicher Unterschied festzu-stellen. Für den täglichen Gebrauch im Bakteriologischen Labor können mit 100 mcg/disc Testblättchen befriedigende Ergebnisse erwartet werden. Sollte es sich jedoch um Problemkeime handeln, die eine höhere Dosierung notwendig erscheinen lassen, so sind vom bakteriologischen Standpunkt aus 400 mcg/disc Testblättchen günstiger. (vgl. dazu E/3)

H. Kritische Betrachtung der Versuchsergebnisse

Ziel der Arbeit war es, zu untersuchen, ob es zulässig ist, im Routinetestverfahren, wie es der Hemmhoftest darstellt, minimale Hemmkonzentrationen zu ermitteln und dadurch Richtlinien für den therapeutischen Einsatz eines Antibiotikums festzulegen.

Die Voraussetzung für eine möglichst genaue Reproduzierbarkeit der Testergebnisse war ein hohes Maß an Standardisierung. Die Vorschriften sollten sich natürlich auch in der praktischen Arbeit des Bakteriologischen Labors durchführen lassen. Mit relativ einfachen Standards, wie Agartiefe und Inokulationsdichte, die sich als die beiden wesentlichsten Größen zeigten, konnte dies befriedigend gelöst werden.

Schwieriger stellt sich jedoch die Interpretation der Ergebnisse dar. Beim Ampicillintest ergaben sich beispielsweise, trotz sorgfältigster Beachtung der Versuchsvorschriften, sehr große Streuungen der einzelnen Messungen. Auch bei der Verwendung von Testtabletten mit einer Beschickung von 75 mcg/Tbl. ist noch mit einer erheblichen Streuung der Meßwerte zu rechnen. Die Korrelationsanalyse zeigt zwar eine gute Beziehung zwischen Hemmzonendurchmesser und Reihenverdünnungstest an, es darf jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, daß im Falle von Ampicillin die durch einen Hemmhoftest ermittelten MIC's äußerst kritisch zu betrachten sind. Die Verwendung einer Regressionsgeraden bei Ampicillin im Sinne einer Eichgeraden für die Testblättchen oder Testtabletten stellt eine, mei-

ner Ansicht nach, unzulässige Vereinfachung der Verhältnisse dar. Bezüglich der Verwendung einer Regressionsgeraden beim Hemmhof-testverfahren ist immer wieder zu betonen, daß sie lediglich einen optimalen Verlauf aus einer Vielzahl von Einzelmessungen demonstriert. Sie stellt eine rein mathematische Beziehung von Hemmzonendurchmesser und MIC dar. In der praktischen Routinetestung aber wird von wenigen Einzelmessungen ausgegangen, so daß es unbedingt notwendig erscheint, den dabei auftretenden Streuungen der MIC's gerecht zu werden.

Bei der Verwendung der von mir vorgeschlagenen Diagramme zur Auswertung der Hemmzonendurchmesser ist es möglich, diese Streuung zu berücksichtigen und die tatsächliche MIC eines Keimes ziemlich genau festzustellen. Die Streubreite bei den einzelnen Substanzen ist selbstverständlich unterschiedlich und bei Ampicillin, wie auch beim ICS-Report betont wird, ziemlich groß.

Bei Carbenicillin, und insbesondere bei Cephalotin, liegen die Verhältnisse weitaus günstiger. So ist die Regressionsgerade bei Cephalotin den Anforderungen einer Eichgeraden schon sehr nahe.

Trotzdem darf die Leistungsfähigkeit des Hemmhoftests in Bezug auf eine exakte Determination einer MIC nicht unterschätzt werden. Für eine einigermaßen genaue Testung müssen mindestens drei Testblättchen pro Keim verwendet werden. So kann am ehesten abgeschätzt werden, ob die MIC im oberen oder unteren Bereich eines Empfindlichkeitsintervalls zu liegen kommt.

Abschließend ist noch zu bemerken, daß es doch gelungen ist, den Aussagewert des Hemmhoftests wesentlich zu steigern, was jedoch nicht ändert, daß als endgültige Bezugsgröße nach wie vor der Reihenverdünnungstest anzusehen ist, und daß es auch weiterhin notwendig bleiben wird, bei den Problemkeimen die genaue MIC mit Hilfe des Reihenverdünnungstests festzustellen.

Die Arbeit versuchte, die bisher üblichen Begriffe 'resistent, empfindlich usw.' durch genauere Angaben in Form von MIC-Werten zu ersetzen. Dies scheint gelungen zu sein. Es ist auch jetzt eher möglich, ein geeignetes Antibiotikum auszuwählen, da jetzt nach der Angabe der MIC's eine Auswahl der in Frage kommenden Antibiotica für eine therapeutische Anwendung gezielter erfolgen kann. Der Kliniker kann außerdem orientierende Informationen über den zu erreichenden therapeutischen Wirkspiegel vom bakteriologischen Labor erhalten.

Selbstredend kann es sich bei den Diagrammen zur Auswertung der Hemmzonen nur um Modelle handeln, die weiter ausgebaut werden müßten. Insbesondere sind auch Versuche mit anderen Keimen und hohen Keimzahlen durchzuführen, was im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich war.

J. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, für drei Antibiotika Ampicillin, Carbenicillin, Cephalotin, die mit zu den wichtigsten Medikamenten bei der Bekämpfung bakterieller Infektionen gehören, den Hemmhofstest so zu interpretieren, daß von einem Hemmzonendurchmesser ausgehend eine genauere Angabe über die Empfindlichkeit eines Keimes gemacht werden kann. Die Bezugswerte für die Angaben in MIC-Werten lieferten die parallel zu den Hemmhofstests durchgeführten Reihenverdünnungstests. Die Voraussetzung für eine Korrelation von RVT und HH-Test war die genaue Festlegung von Standardbedingungen, unter denen die Versuche abliefen. In Vorversuchen wurden sämtliche Größen, die geeignet sind, das Testergebnis im HH-Test zu beeinflussen, genauestens untersucht. Danach wurden die Standards, unter denen die eigentlichen Versuche ablaufen sollten, festgelegt.

Nach Durchführung der Hauptversuche wurden die Ergebnisse in einer graphischen Darstellung festgehalten. Der Zusammenhang von Hemmzonendurchmesser und MIC aus dem Reihenverdünnungstest wurde, wie es bei vielen anderen Autoren und auch bei ICS-Report (ERICSSON/SHERRIS) üblich ist, mit Hilfe einer Regressionsgeraden demonstriert. Eine kritische Betrachtung dieser Darstellung ergab jedoch, daß eine Regressionsgerade zwar die Korrelation von Hemmzonendurchmesser und MIC gut aufzeigt, in der täglichen Routinearbeit des bakteriologischen Labors aber keine großen Dienste zu leisten vermag. Bei der

Darstellung durch eine Regressionsgerade müssen alle Werte, die in Grenzbereichen liegen, unberücksichtigt bleiben. Meiner Ansicht nach ist bei diesem Verfahren mit einer erheblichen Fehlerbreite zu rechnen, da die nicht unerheblichen Streuungen der Meßergebnisse, die auch bei genauester Einhaltung der Versuchsbedingungen nicht wesentlich reduziert werden konnten, vernachlässigt werden.

Deshalb bevorzugte ich die Verwertung der Testergebnisse mit Hilfe eines Diagrammes, bei dem auch die Häufigkeiten der auftretenden einzelnen Meßergebnisse berücksichtigt werden können.

Eine Beurteilung von Hemmhoftests mit Hilfe einer Regressionsgeraden würde meiner Ansicht nach eine Fehlinterpretation des Hemmhoftests mit sich bringen, oder zumindest seine Leistungsfähigkeit bezüglich seiner Aussagekraft erheblich überziehen.

Eine Überprüfung der Testergebnisse, wie sie im Diagramm dargestellt sind, mit Hilfe einer Korrelationsanalyse nach Spearman zeigt, daß eine gute Korrelation vorhanden ist. Zugrundegelegt wurden dabei die am häufigsten erhaltenen Meßwerte.

So scheint es gelungen zu sein, den Aussagewert des Hemmhoftests dahingehend erweitert zu haben, daß auf Grund eines Hemmzonendurchmessers eine MIC angegeben werden kann, die nahe an der tatsächlichen MIC des getesteten Keimes liegt.

h. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) P. Acred, D.M. Brown, E.T. Knudsen,
G.T. Rolinson und R. Sutherland:

Nature 215, 25-30 (1967)
- (2) L.D. Bourgeois and L.J. Hart:

The Effect of agar depth on disc
sensitivity Testing

List of Reports prepared in Connection
with the Collaborative Study (ICS)
- (3) G.D. Chisholm: Concentration of antibakterial agent
in interstitial tissue fluid. Brit. med. J.
(I/1973) 569-573
- (4) E.E. Cooper: Theory of antibiotic inhibition zones
in agar media

Nature London 176 : 510
- (5) Katherine Dornbusch: Regression Line Analysis of the Syneri-
gistic Effect for the Combination of
Trimethoprim / Sulphamethoxazole
Chemotherapie 16 : 229-238 (1971)

- (6) C.L. Dunsmoor and Sherris 1967:

Effect of agar depth on zone

List of Reports prepared in Connection
with the Collaborative Study (ICS)

- (7) A. Egetmeyer, et. alt.:

Cephalotin-Serumkonzentrationen und

Urinausscheidung bei Patienten mit

chron. Niereninsuffizienz

Deutsch. Med. Wschr. 12, 495-498 (1971)

- (8) H.M. Ericsson and J.C. Sherris:

Antibiotic sensitivity Testing, Report
of an Internat. Collaborative Study

Munksgaard, Copenhagen

Acta path. et microb. scand. Section B
1971, Sup.Nr. 217

- (9) H. Ericsson:

Standardization of Method for Conduktion
Microbic Sensitivity Testing

Karvlinska Sjukhuset Stockholm/Nov. 1966

- (10) Erlandson:

Determination of the Sensitivity in vitro
of Bakteria to chemotherapeutic agents with
special referenc to routine tests Acta path.
scand. Copenh. Suppl LXXXV 51

- (11) H. Finger: Die antibakterielle Wirksamkeit von Cefalotin nach invitro Untersuchungen Med. Welt 18 (N.F.): 914-916 (1967)
- (12) R. Gallien und H. Schönfeld: Untersuchung zur Frage der Resistenzprüfung von Bakterien gegen Wirkstoffkombinationen am Beispiel der Kom. Trimethoprim und Sulfamethaxol Drug research 21, 577-583 (1971)
- (13) V.C. Jay and J.C. Sherris: Studies on the definition of Endpoint for zones of inhibition List of reports ICS
- (14) Zdena Jedlickova und Milos Ryc: Die Wirkung von Carbenicillin auf einige Mikroorganismen Drug Research 19, 1513-1517 (1969)
- (15) W.M.M. Kirby: Clinical Status of Cephalotin Antimicrob. Agents and Chemoth. 1964 AmSoc. Microbiol. 1965, 274-279

- (16) P. Klein: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis
(Berlin - Heidelberg - New York 1967)
- (17) Brian Lynn: Pharmazeutische Aspekte halbsynthetischer Penicilline
The Journal of Hospital Pharmacy, März 1970
- (18) J. Müller: Med. Welt 21 (N.F.): 147-148 (1970)
- (19) S. Myamura: Determination of the Sensitivity of Microorg. to the Antibiotics by the agarplate diffusion method
Antibiotics an. Chemoth. 3.903 1953
- (20) P. Naumann und R. Hubmann:
Der Urologe 7,16, 1968, Heft 1
- (21) P. Naumann und J. Kempf:
Carbenicillin, Experimentelle Studien zur antibakteriellen Aktivität und klinischen Pharmakologie
Drug Research 19, 1222-1233 (1969)
- (22) P. Naumann: Experimentelle und klin. Untersuchungen zur parent. Anwendung von Ampicillin
Dtsch. med. Wschr. 90(1965) No 24 P1085-1086 und 1089-1092

- (23) P. Naumann: Bakteriologische und Pharmakologische
Eigenschaften der neuen Cephalosporin
Antibiotica
Drug Res. 16, 818-825, 1099-1104 (1966)
- (24) H. Neussel: Ärztl. Lab. 17: 9-16 (1970)
- (25) Pyopen-Carbenicillin Beecham:
Research Lab. Brentford, England 1969
- (26) O.P.W. Robinson: Antimicrob. Agents and Chemother.
614-618 (1967)
- (27) G.N. Rolinson und R. Sutherland:
Antimicrob. Agents and Chemother.
609-613 (1967)
- (28) G.N. Rolinson und Sh. Stevens:
Brit. med. J. II, 191-196, 1961
- (29) Ryan Kenneth J., Fritz D. Schoenknecht, William M.M. Kirby:
Disc Sensitivity Testing
Hospital Practice, Febr. 1970 Vol 5 No 2
Pp 91-100

- (30) Wahlig, Linzmeier u.a.:
Zur Korrelation von Agardiffusion und
Reihenverdünnungstest
Int. J. Clin. Pharmacol. 7 4 (1973) 328-339
- (31) K.H. Wallhäuser:
Die praktische Bedeutung des Antibiotika-
Sensibilitäts-tests
Diskussionsbeitrag zu Thema "Chemothera-
peutische Untersuchungsmethoden"
(DIN-Normenausschuß C 5)
- (32) Walter/Heilmeyer: Antibiotikafibel 3. Auflage 1969
- (33) B. Warnecke:
Cephalotin im Antibiogramm
Drug Res. 17, 1537-1541 (1967)
- (34) W. Stille und W. Mondorf:
Dtsch. med. Wschr. 91 (1966) No.45, p.1997
- (35) Auhagen, Ch. Gloxhuber et. al.:
Drug Research 12, 791-807 (1962)
- (36) R.J. Jones und E.J.L. Lowbury:
Brit. med. J. 79 (1967)
- (37) W. Marget:
Dtsch. med. Wschr. 90 (1965) Nr. 44,
p. 1960-1963

- (38) F. Legler: Die Rolle von Ampicillin in der
antibiotischen Therapie
Drug Research 16, 814-818 (1966)
- (39) L. Hepding und H. Wahlig:
Experimentelle Untersuchungen über
ein neues Antibiotikum, Gentamycin
Drug Research 16, 1-11 (1966)
- (40) P. Naumann: Zum gegenwärtigen Stand einer
Standardisierung der Resistenz-
bestimmung in Deutschland
Kurzmitteilung infection 2 (1974) No. 1
- (41) H. Wahlig, P. Naumann, G. Linzmeier:
Zur Korrelation von Agar-Diffusions-
und Reihenverdünnungstests für Gentamycin
Int. J. Clin. Pharmacol. 7 4 (1973) 328-339
- (42) W. Ritzfeld und H. Stromberg:
Drug Research 16, 1219-1221 (1966)
- (43) Werner Fröhlich: Forschungsstatistik
Bouvier u. Co. Verlag 1965
- (44) R.C. Capell: Statistics for Biologists
Cambridge University Press 1967

A n h a n g

Liste des verwendeten Materials

Petrischalen, Plastik, Durchmesser 8,5 cm

Reagenzgläser, Länge 10,0 cm, lichter Durchmesser 12 mm
mit Plastikstopfen steril

Verwendete Bouillon: Bacto Penassay Broth

Verwendeter Agar: DIFKO Antibiotic Medium 1

Zusammensetzung:

Bacto-Beaf Extraction	1,5 g
Bacto Yeast	3,0 g
Casitone	4,0 g
Peptone	6,0 g
Dextrose	1,0 g
Bacto Agar	15,0 g
Ph 6,6 bei 25° C	

Die Petrischalen wurden bei der Testung mit einer Agardicke
von 4 mm beschickt.

AMPICILLIN

Puffer 6,5 Phosphat

Reihenverdünnungstest

	<u>I. Reihe</u>		<u>II. Reihe</u>
1.	100 mcg/ml	_____	80 mcg/ml
2.	50	_____	40
3.	25	_____	20
4.	12,5	_____	10
5.	6,25	_____	5
6.	3,125	_____	2,5
7.	1,56	_____	1,25
8.	0,78	_____	0,625
9.	0,39	_____	0,31
10.	0,18	_____	0,15

Blättchenbeschickung:

5 mcg/disc

15 mcg/Tbl. = 5 mcg/disc

75 mcg/Tbl. = 25 mcg/disc

CEPHALOTIN LILLY

Puffer 7,2 Phosphat

Reihenverdünnungstest

	<u>I. Reihe</u>		<u>II. Reihe</u>
1.	40 mcg/ml	_____	30 mcg/ml
2.	20	_____	15
3.	10	_____	7,5
4.	5	_____	3,75
5.	2,5	_____	1,87
6.	1,25	_____	0,94
7.	0,625	_____	0,47
8.	0,31	_____	0,235
9.	0,15	_____	0,12
10.	0,07	_____	0,06

Keime, die über 40 mcg lagen, aber noch einen Hemmhof zeigten,
wurden erneut einer Verdünnungsreihe unterzogen, von 250 mcg/ml I. Reihe
200 mcg/ml II. Reihe

Blättchenbeschickung: 30 mcg/disc

CARBENICILLIN

Puffer 7,2 Phosphat

Reihenverdünnungstest

	<u>I. Reihe</u>		<u>II. Reihe</u>
1.	400 mcg/ml	_____	300 mcg/ml
2.	200	_____	150
3.	100	_____	75
4.	50	_____	37,5
5.	25	_____	18,75
6.	12,5	_____	9,37
7.	6,25	_____	4,68
8.	3,125	_____	2,34
9.	1,56	_____	1,17
10.	0,78	_____	0,58

Blättchenbeschickung: 100 mcg/disc
400 mcg/disc

Testergebnis beim Ampicillintest

verwendete Testblättchen
5 mcg/disc

I. Test

II. Test

Stamm	MIC	Hemmzonengröße			MIC	Hemmzonengröße		
EC 1	1.25	20	20	19	1.25	21	20	20
EC 2	25	13	13	13	25	13	14	13
EC 3	1.25	21	21	20	1.25	21	20	22
EC 4	0.78	25	25	26	0.78	25	26	26
EC 5	1.25	19	19	20	1.25	22	19	20
EC 6	0.62	25	26	26	0.62	26	25	25
EC 7	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 8	0.62	27	27	26	0.78	26	26	27
EC 9	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 10	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 11	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 12	2.5	15	15	15	1.56	21	19	19
EC 13	1.56	24	23	23	1.56	26	24	23
EC 14	1.25	20	21	21	1.25	20	21	22
EC 15	2.5	16	18	18	2.5	18	18	19
EC 16	1.25	20	19	20	1.25	18	21	21
EC 17	1.25	23	21	22	0.78	21	21	22
EC 18	1.56	18	19	19	1.56	18	18	18
EC 19	0.78	21	21	22	0.78	21	22	22
EC 20	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 21	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 22	1.56	20	19	20	1.56	20	22	22
EC 23	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 24	∞ 100	9	9	9	∞ 100	9	9	9
EC 25	0.62	19	21	22	0.62	22	22	21

Testergebnis beim Ampicillintest

verwendete Testblättchen
5 mcg/disc

I. Test

II. Test

Stamm	MIC	Hemmzonengröße			MIC	Hemmzonengröße		
EC 26	0.78	18	22	22	0.78	22	22	21
EC 27	1.56	25	24	25	1.56	23	23	22
EC 28	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 29	1.25	25	24	23	1.25	23	22	23
EC 30	1.25	20	20	21	1.25	20	20	19
EC 31	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 32	5.0	14	16	15	5.0	15	15	16
EC 33	1.56	22	23	22	1.56	22	23	22
EC 34	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 35	1.56	17	19	17	1.56	19	19	20
EC 36	1.25	22	21	21	1.25	22	21	21
EC 37	0.62	22	23	22	0.62	22	22	21
EC 38	1.25	20	20	21	1.25	21	22	21
EC 39	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 40	1.25	18	19	22	1.25	19	22	22
EC 41	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 42	1.25	19	18	20	1.25	20	22	21
EC 43	0.39	28	25	26	0.39	26	27	27
EC 44	0.62	26	24	24	0.62	25	26	27
EC 45	25	13	14	13	25	13	13	14
EC 46	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9
EC 47	2.5	20	19	18	2.5	20	20	19
EC 48	1.56	23	23	22	1.56	23	23	20
EC 49	12.5	15	15	14	12.5	14	15	15
EC 50	> 100	9	9	9	> 100	9	9	9

Ampicillintest mit Testtabletten BINOTAL 15 mcg/Tbl. entsprechend
einer Papierblättchenbeschickung von 5 mcg/disc
und 75 mcg/Tbl. entsprechend einer von 25 mcg/disc

Stamm	MIC	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg
		Inokulation m.	Platinöse	Flooding	Method
EC 51	0.62	22 22 21	32 31 32	20 20 21	32 32 31
EC 52	40.0	12 12 12	16 17 16	12 11 12	16 15 16
EC 53	1.25	23 23 25	30 30 30	23 23 23	30 30 30
EC 54	1.25	22 21 22	30 30 30	21 22 22	30 30 30
EC 55	1.56	21 22 23	29 29 28	21 21 22	30 29 29
EC 56	5.0	16 16 15	26 27 27	15 16 15	26 27 27
EC 57	100	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
EC 58	1.56	19 21 21	30 30 30	23 22 21	27 27 27
EC 59	> 100	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
EC 60	0.78	22 24 24	31 30 31	22 24 22	31 30 30
EC 61	0.62	22 22 22	30 31 31	21 22 22	32 31 32
EC 62	0.78	22 23 23	32 32 32	22 23 23	32 33 32
EC 63	2.5	22 21 22	30 30 29	22 22 23	30 29 29
EC 64	1.56	25 22 22	27 26 27	22 22 23	29 30 29
EC 65	0.78	22 23 23	32 29 30	22 22 23	29 28 28
EC 66	2.5	20 20 21	28 27 28	20 21 20	28 27 26
EC 67	0.62	22 24 23	32 32 31	22 23 23	32 32 30
EC 68	2.5	22 22 22	28 28 29	22 22 22	27 28 28
EC 69	1.25	21 19 20	30 30 30	19 19 20	28 30 30
EC 70	80	0 0 0	12 11 12	0 0 0	11 11 12

Stamm	MIC	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg
		Inokulation m.	Platinöse	Flooding	Method
EC 71	10	15 14 15	19 20 19	14 14 15	21 20 19
EC 72	1.25	22 22 24	30 30 30	22 22 23	30 28 30
EC 73	0.78	22 22 24	30 30 29	22 22 23	29 30 29
EC 74	> 100	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
EC 75	0.62	22 22 23	32 32 31	22 22 22	32 32 31
EC 76	1.25	24 25 25	32 32 31	23 23 24	32 32 31
EC 77	1.25	25 25 25	30 30 29	24 25 25	30 30 29
EC 78	0.62	22 22 23	32 32 32	22 22 23	29 30 30
EC 79	2.5	22 22 23	28 28 29	23 23 22	27 28 28
EC 80	6.2	15 14 16	22 23 24	14 15 15	25 24 25
EC 81	> 100	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
EC 82	1.56	21 21 23	31 30 30	23 23 23	29 28 28
EC 83	1,25	21 20 21	30 30 29	22 23 22	29 28 29
EC 84	12.5	15 14 14	17 18 18	15 15 15	16 17 17
EC 85	0.78	24 25 24	31 31 31	24 24 23	29 28 29
EC 86	2.5	19 20 20	28 28 29	21 21 22	27 27 28
EC 87	0.78	24 25 25	31 31 32	20 21 21	28 28 29
EC 88	0.62	22 22 23	33 32 33	22 22 21	30 30 31
EC 89	1.25	23 23 23	31 31 30	22 23 22	31 30 30
EC 90	> 100	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
EC 91	50.0	0 0 0	13 13 13	0 0 0	12 13 13
EC 92	0.78	19 21 21	31 32 31	19 21 22	30 30 31
EC 93	0.62	22 23 23	33 33 34	21 22 21	31 31 30

Stamm	MIC	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg	Hemmzone 15 mcg	Hemmzone 75 mcg
Inokulation m. Platinöse			Flooding Method		
EC 94	2.5	20 19 20	28 28 29	20 21 20	28 28 27
EC 95	2.5	22 21 22	28 28 28	21 21 22	28 28 29
EC 96	0.39	22 23 22	34 34 33	22 22 23	35 34 34
EC 97	0.62	22 22 21	33 32 31	22 21 21	32 32 31
EC 98	2.5	20 19 20	28 28 29	20 19 19	28 28 27
EC 99	6.2	17 16 15	26 25 24	17 17 16	21 20 22
EC 100	0.62	22 23 23	32 32 33	21 22 21	29 30 30

Carbenicillin Testergebnisse

Stamm	MIC	<u>I. Test</u>		MIC	<u>II. Test</u>	
		HH 100 mcg	HH 400 mcg		HH 100 mcg	HH 400 mcg
EC 1	1.56	34 35 35	38 38 37	1.56	35 35 34	38 38 38
EC 2	12.5	30 30 30	32 32 33	12.5	30 30 31	32 32 32
EC 3	3.1	33 33 33	35 36 34	3.1	33 34 34	36 36 35
EC 4	3.1	34 34 34	35 35 35	4.6	34 33 33	35 35 35
EC 5	18.7	30 30 30	32 32 32	18.7	30 30 30	32 32 32
EC 6	3.1	35 34 34	36 37 36	3.1	34 34 35	36 37 37
EC 7	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 8	12.5	30 29 29	32 33 32	12.5	30 29 29	32 32 32
EC 9	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 10	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 11	1.5	36 37 36	39 39 40	1.5	37 36 36	38 39 38
EC 12	3.1	32 32 32	35 35 34	3.1	32 32 32	35 34 35
EC 13	0.78	39 38 39	41 42 42	0.78	37 39 38	40 41 41
EC 14	6.2	32 32 33	34 34 34	6.2	32 31 31	34 34 33
EC 15	12.5	33 33 32	32 32 33	12.5	32 32 31	33 33 32
EC 16	18.7	31 31 30	32 32 33	18.7	31 30 30	32 33 32
EC 17	12.5	30 30 31	32 32 32	12.5	30 30 30	32 32 32
EC 18	12.5	29 30 31	32 32 33	12.5	30 29 29	33 33 33
EC 19	100	21 21 21	26 26 26	100	21 21 22	26 26 26
EC 20	0.78	39 38 39	42 41 42	0.78	38 39 36	40 41 41
EC 21	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 22	3.1	33 33 33	35 36 35	3.1	33 32 33	35 35 35
EC 23	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 24	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0
EC 25	3.1	34 33 33	36 36 35	3.1	33 33 34	36 36 36

Carbenicillin Testergebnisse

Stamm	MIC	<u>I. Test</u>			MIC	<u>II. Test</u>		
		HH 100 mcg	HH 400 mcg			HH 100 mcg	HH 400 mcg	
EC 26	12.5	29 28 29	32 32 33	18.7	29 28 29	32 32 32		
EC 27	2.3	33 34 34	36 36 37	2.3	33 33 34	35 36 36		
EC 28	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0		
EC 29	3.1	33 33 34	36 35 36	3.1	33 33 34	35 35 35		
EC 30	6.2	29 29 30	33 33 32	6.2	29 29 29	33 33 32		
EC 31	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0		
EC 32	37.5	22 22 22	27 27 27	25	22 23 22	27 26 27		
EC 33	1.56	34 36 37	36 38 38	1.56	34 35 34	38 37 38		
EC 34	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0		
EC 35	6.2	30 30 30	33 33 33	6.2	30 30 29	33 33 33		
EC 36	12.5	30 31 29	32 32 32	12.5	29 29 31	32 32 32		
EC 37	3.1	32 32 33	34 34 33	3.1	32 32 31	34 34 35		
EC 38	9.3	31 31 31	32 32 32	9.3	31 31 32	32 32 32		
EC 39	25	27 26 26	31 30 30	25	27 26 25	30 30 31		
EC 40	> 400	0 0 0	0 0 0	> 400	0 0 0	0 0 0		
EC 41	200	0 0 0	8 8 8	> 400	0 0 0	8 8 8		
EC 42	6.2	29 30 30	33 33 33	6.2	30 30 30	33 33 34		
EC 43	3.1	35 35 34	38 39 39	3.1	35 34 34	39 38 39		
EC 44	25	29 28 27	31 30 31	25	27 27 28	31 31 30		
EC 45	12.5	30 30 30	33 32 33	12.5	29 28 28	32 32 32		
EC 46	3.1	32 31 32	34 34 36	3.1	30 32 32	34 34 34		
EC 47	6.2	30 30 30	32 32 32	6.2	29 30 32	32 32 33		
EC 48	12.5	29 29 29	31 31 31	12.5	29 28 29	31 31 31		
EC 49	3.1	33 33 33	35 34 35	3.1	29 28 29	31 33 33		
EC 50	1.5	36 35 35	38 38 37	1.5	34 35 34	37 37 36		

Testergebnisse beim Cephalotin-Test

verwendete Testblättchen
30 mcg/disc

I. Test

II. Test

Stamm	MIC	Hemmzonengröße	MIC	Hemmzonengröße
EC 1	10.0	17 18 20 20	10.0	20 20 20 19
EC 2	15.0	18 18 17 16	10.0	18 19 19 19
EC 3	7.5	22 20 20 21	7.5	20 22 22 22
EC 4	10.0	22 22 21 20	10.0	19 20 20 20
EC 5	10.0	17 17 18 20	7.5	20 20 20 20
EC 6	2.5	28 29 27 29	2.5	29 27 28 28
EC 7	5.0	23 23 23 22	5.0	23 23 24 24
EC 8	5.0	24 24 24 24	5.0	23 24 24 24
EC 9	7.5	23 23 23 22	7.5	23 22 22 22
EC 10	10.0	20 20 21 21	10.0	20 20 19 19
EC 11	30.0	14 14 16 16	30.0	16 16 16 15
EC 12	5.0	22 22 23 22	5.0	22 22 22 22
EC 13	40.0	13 13 13 13	40.0	12 13 12 13
EC 14	15.0	17 17 18 18	15.0	17 17 17 18
EC 15	10.0	20 20 21 22	10.0	20 21 21 22
EC 16	2.5	26 27 28 26	2.5	28 29 29 28
EC 17	5.0	23 23 22 25	5.0	24 23 22 22
EC 18	> 200.0	0 0 0 0	> 200	0 0 0 0
EC 19	125.0	10 10 10 10	125.0	10 10 10 10
EC 20	7.5	21 21 21 22	7.5	21 21 22 22
EC 21	5.0	24 24 25 26	5.0	24 24 25 23
EC 22	40.0	14 15 15 15	40.0	13 13 12 14

Cephalotin

Stamm	MIC	<u>I. Test</u>	MIC	<u>II. Test</u>
		Hemmzonengröße		Hemmzonengröße
EC 23	125.0	9 9 10 9	125.0	10 10 9 10
EC 24	10.0	22 22 21 21	10.0	22 21 21 21
EC 25	3.75	26 25 27 26	3.75	26 26 26 27
EC 26	30.0	15 15 16 15	30.0	16 16 15 15
EC 27	7.5	22 22 21 22	7.5	22 22 21 23
EC 28	10.0	20 20 19 19	10.0	20 20 21 20
EC 29	15.0	18 18 19 18	15.0	18 17 17 17
EC 30	7.5	20 22 22 20	7.5	20 21 21 22
EC 31	20.0	16 16 16 17	20.0	16 16 16 16
EC 32	1.87	29 30 29 31	1.87	31 31 30 30
EC 33	10.0	21 21 22 21	10.0	21 21 21 22
EC 34	7.5	22 23 22 23	7.5	22 23 22 23
EC 35	5.0	23 23 24 24	5.0	23 24 24 24
EC 36	7.5	22 22 22 22	7.5	22 22 21 22
EC 37	2.5	29 30 29 29	2.5	29 30 30 29
EC 38	30.0	17 16 16 15	30.0	15 16 15 15
EC 39	20.0	16 16 16 17	20.0	16 15 16 17
EC 40	1.25	31 31 31 30	1.25	31 31 30 30
EC 41	3.75	25 25 26 26	3.75	26 26 26 27
EC 42	> 200	0 0 0 0	> 200	0 0 0 0
EC 43	10.0	20 21 20 20	10.0	21 20 20 20
EC 44	15.0	18 18 19 18	15.0	18 17 18 18
EC 45	125.0	8 8 8 9	125.0	9 9 9 10

Cephalotin

Stamm	MIC	<u>I. Test</u>	MIC	<u>II. Test</u>
		Hemmzonengröße		Hemmzonengröße
EC 46	40.0	11 11 12 12	40.0	11 11 11 12
EC 47	7.5	22 21 22 22	7.5	22 23 21 21
EC 48	5.0	23 23 23 24	5.0	23 23 23 24
EC 49	10.0	19 19 18 20	10.0	20 20 20 21
EC 50	10.0	20 20 20 21	10.0	22 21 20 22

Herrn Prof. Dr. W. L a n g gilt für die
freundliche Überlassung des Themas und für
seine wertvollen Anregungen mein besonderer
Dank.

Ich danke auch Frau H o f f m a n n sehr
herzlich für die guten Ratschläge bei der
praktischen Arbeit.

L e b e n s l a u f

Geboren:	14. Dezember 1946 in Ingolstadt
Eltern:	Wilhelm Kain, Amtsrat i.R. Anna Kain, geb. Nägelein
1953 - 1957:	Grundschule in Ingolstadt
1957 - 1966:	Christoph-Scheiner-Gymnasium in Ingolstadt
1966:	Reifeprüfung
1966 - 1968:	Grundwehrdienst
Sommersemester 1968	Studium der Tiermedizin
u. Wintersemester 1968/1969:	und naturwissenschaftliche Prüfung an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Sommersemester 1969:	Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Sommersemester 1970:	Ärztliche Vorprüfung
Herbst 1973:	Ärztliche Prüfung

